

U. A. M. IZTAPALAPA BIBLIOTECA

U N I V E R S I D A D A U T O N O M A M E T R O P O L I T A N A

U N I D A D I Z T A P A L A P A

DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
MAESTRIA EN BIOLOGIA EXPERIMENTAL

VALORACION EXPERIMENTAL DEL EFECTO DE EXTRACTOS DE
LA RAIZ DE *Psacalium peltatum* EN LA GLUCEMIA

127876

sustentante

ALICIA | LARA LEMUS

Dirección de tesis
Dr. RUBEN ROMAN RAMOS
ASESORES
Dr. RAUL G. ENRIQUEZ HABIB
Dra. LAURA PEREZ FLORES
México, D.F.

junio 1992

Este trabajo fué realizado en el Laboratorio de Farmacología del Departamento de Ciencias de la Salud de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa y en el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de Mexico.

La maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa, cuenta con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por medio del Convenio de Fortalecimiento al Posgrado Nacional No 7.

DEDICATORIA

A MI HERMANO
A MIS HIJOS
A MIS PADRES
A MIS ABUELITAS
A MI ABUELITO
A MIS SOBRINAS
A MIS TIOS
A MIS PRIMOS
A MIS AMIGOS

U. A. M. TETAPALAPA BIBLIOTECA

AGRADEZCO ESPECIALMENTE EL APOYO, COMPRENSION Y PACIENCIA DEL Dr RUBEN ROMAN RAMOS PARA LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO.

AGRADEZCO EL APOYO Y LA ASESORIA DEL Dr RAUL G. ENRIQUEZ HABIB EN LA PARTE FITOQUIMICA Y ESPECTROSCOPICA DEL TRABAJO QUE SE REALIZO EN EL INSTITUTO DE QUIMICA DE LA UNAM.

AGRADEZCO EL APOYO Y LA ASESORIA DE LA Dra LAURA PEREZ FLORES.

AGRADEZCO EL APOYO DE LA Dra CONCEPCION GUTIERREZ COORDINADORA DE LA MAESTRIA EN BIOLOGIA EXPERIMENTAL DE LA UAM-I.

AGRADEZCO EL APOYO DEL M en C ARTURO PRECIADO LOPEZ, JEFE DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA SALUD DE LA UAM-I.

AGRADEZCO LA COLABORACION DEL M en C ADOLFO ESPEJO SERNA y DE LA M en C ANA ROSA LOPEZ FERRARI POR SU COLABORACION EN LA IDENTIFICACION BOTANICA DE LA PLANTA Y LA ELABORACION DE LOS EJEMPLARES DE COLECCION PARA EL HERBARIO METROPOLITANO UAM-I.

AGRADEZCO EL APOYO DE LA Med Vet Ma DE LOURDES PEREZ MORENO RESPONSABLE DEL BIOTERIO DE LA UAM-I.

AGRADEZCO AL Ing en Com MARTIN GARCIA NAVA ENCARGADO DE LA SALA DE INFORMATICA DE CSH POR SU INVALUABLE COLABORACION EN LA PARTE RELACIONADA CON PROGRAMAS DE COMPUTO Y ASESORIA PARA SU UTILIZACION.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Q.F.B. BERTHA AVIÑA LEMUS
Quim. L. CARMEN MARQUEZ ALONSO
Quim ENRIQUE ALDUCIN SUAREZ
M en C FRANCISCO J. ALARCON
M en C GIL A. MAGOS GUERRERO
Biol Exp GUADALUPE MANZANAREZ
Med Cir JOSE LUIS FLORES SAENZ
Srita JUDITH MORALES VARGAS
Biol Exp MARCELA PALOMERO
Sra MARIANA MEANEY RODRIGUEZ
Rest. TATIANA FALCON ALVAREZ

INDICE

I	INTRODUCCION	12
II	ANTECEDENTES	14
II.1	DIABETES MELLITUS	14
II.1.1	Historia	14
II.1.2	Prevalencia	15
II.1.3	Clasificación	16
II.1.4	Complicaciones	16
II.1.4.1	Inmediatas	16
II.1.4.2	Tardías	19
II.1.5	Tratamiento	20
II.1.5.1	Insulina	20
II.1.5.2	Hipoglucemiantes orales	25
II.1.5.2.1	Sulfonilureas	25
II.1.5.2.2	Biguanidas	27
II.2	PLANTAS MEDICINALES	29
II.2.1	Plantas "antidiabéticas"	32
II.2.1.1	Psacalium peltatum	34
III	JUSTIFICACION	40
IV	HIPOTESIS	42
V	OBJETIVO	42

VI MATERIAL Y METODOS	43
VI.1 MATERIAL	43
VI.1.1 Material Biológico	43
VI.1.1.1 Animales	43
VI.1.1.2 Planta	43
VI.1.2 Equipo de laboratorio	43
VI.1.3 Compuestos	44
VI.2 METODO	44
VI.2.1 Colecta e identificación de la planta	44
VI.2.2 Preparaciones de la raíz	45
VI.2.2.1 Preparación de la decocción	45
VI.2.2.2 Preparación de los extractos	45
VI.2.2.3 Obtención de tres fracciones	46
VI.2.2.4 Obtención de alcaloides	46
VI.2.3 Ensayos biológicos	47
VI.2.3.1 En conejos	47
VI.2.3.1.1 Sanos con carga de glucosa	48
VI.2.3.1.2 Con diabetes moderada	48
VI.2.3.1.3 Con diabetes severa	49
VI.2.3.2 En ratas	49
VI.2.3.2.1 Sanas con glucemia normal	49
VI.2.3.2.2 Sanas con carga de glucosa	50
VI.2.3.2.3 Con diabetes severa	50
VI.2.4 Análisis de los resultados	51

VII	RESULTADOS	52
VII.1	En conejos	52
VII.1.1	Sanos con carga de glucosa	52
VII.1.2	Con diabetes moderada	56
VII.1.3	Con diabetes severa	60
VII.2	En ratas	63
VII.2.1	Sanas con glucemia normal	63
VII.2.2	Sanas con carga de glucosa	63
VII.2.3	Con diabetes severa	69
VII.2.4	Estudio de los extractos	69
VII.2.5	Estudio de las fracciones	69
VII.2.6	Estudio de los alcaloides	75
VIII	DISCUSION	86
IX	CONCLUSIONES	94
X	BIBLIOGRAFIA	95

ABREVIATURAS

ADN	Acido desoxirribonucleico
Ala	Alanina
AMP	Monofosfato de adenosina
Arg	Arginina
Asn	Asparagina
Asp	Aspartato
Cis	Cisteína
DM	Diabetes mellitus
DMID	Diabetes mellitus insulino dependiente
DMNID	Diabetes mellitus no insulino dependiente
D.E.	Desviación estándar
Fe	Fenilalanina
Gli	Glicina
Gln	Glutamina
Glu	Glutamato
His	Histidina
HLA	Antigenos de histocompatibilidad en los leucocitos
¹ H-RMN	Resonancia Magnetica Nuclear del Protón
I.P.	Intraperitoneal
Ilu	Isoleucina
Leu	Leucina
Lis	Licina
M	Media aritmética
Met	Metionina
OMS	Organización Mundial de la Salud
p	Nivel de significancia estadística
Pro	Prolina
p/v	Peso/volumen
R.A.	Reactivo analítico
Ser	Serina
SSI	Solución salina isotónica
Tir	Tirosina
Tr	Treonina
Trp	Triptofano
U.I.	Unidades Internacionales
Val	Valina
v/v	Volúmen/volumen

PROLOGO

La raíz de *Psacalium peltatum* es utilizada desde hace mucho tiempo por la población mexicana para el control empírico de la diabetes mellitus. De las 40 plantas más usadas por la población la preparación tradicional de esta raíz, se encuentra entre las que produjeron mayor efecto antihiper glucémico en conejos.

En este trabajo se estudió el efecto, de 4 extractos obtenidos con solventes de polaridad creciente de la raíz seca y molida de *Psacalium peltatum*, en conejos y en ratas con hiper glucemia temporal y con hiper glucemia permanente.

La planta se colectó en Texcoco, se elaboraron ejemplares de herbario y la raíz seca y molida se utilizó para obtener los extractos. Del extracto donde se encontró el efecto hipoglu cémico se hizo una cromatografía en columna y se obtuvieron 3 fracciones para estudiar el efecto que cada una de ellas producía en la glucemia, se separaron los alcaloides y se estudió su efecto en la glucemia ya que hay antecedentes de alcaloides de origen vegetal con propiedades hipoglu cémicas, también se realizó un estudio preliminar de su naturaleza química. El estudio de la actividad de la decocción tradicional, de los extractos, de las fracciones y de los alcaloides se realizó en conejos y/o ratas adulto macho con ayuno de 18 horas.

El análisis estadístico de los resultados se realizó utilizando la prueba "t" de Student y se consideró significativa la diferencia con $p < 0.05$.

Los resultados de la investigación muestran que la actividad farmacológica de la decocción observada en los animales de experimentación se conserva en el extracto obtenido con diclorometano y en la fracción cromatográfica de menor polaridad. También se identificó una mezcla de alcaloides tipo pirrolizidina por su espectro de $^1\text{H-RMN}$.

I INTRODUCCION

Las plantas medicinales han servido durante siglos a grandes sectores de la población mundial para el control empírico de sus padecimientos. De aquí la necesidad de consolidar con estudios farmacológicos la información etnobotánica que como herencia de nuestros antepasados se tiene actualmente. La OMS estima que el 80 % de los más de 4000 millones de habitantes de la tierra recurren a las plantas medicinales (1,2), pero solo con una minoría de éstas se han realizado investigaciones dirigidas a la validación de su eficacia e inocuidad.

La medicina tradicional herbolaria ha contribuido al arsenal medicamentoso actual con medicamentos importantes, entre ellos podemos mencionar: digoxina, atropina, morfina, vincristina, warfarina. Sin embargo, no podemos citar ningún medicamento hipoglucemiante de patente de procedencia vegetal (3,4). Se piensa que la explicación se encuentra en la falta de modelos de investigación adecuados, a pesar de que se cuenta con importantes intentos de simulación experimental de la diabetes mellitus humana (5,6,7,8).

Los investigadores en diferentes partes del mundo han dirigido sus esfuerzos al estudio de plantas usadas empíricamente en el control de la diabetes mellitus. En muchos casos se ha corroborado el efecto hipoglucémico que le atribuye la población (9,10,11,12), en otros casos no (13,14,15,16). En algunas plantas ya se ha encontrado la

estructura química del compuesto responsable del efecto farmacológico (17,18,19,20,21) y en un gran número se han encontrado compuestos tóxicos (22, 23, 24, 25) que tal vez por manifestar su acción después de algún tiempo de la ingestión, han pasado desapercibidos para la población.

II ANTECEDENTES

II.1 DIABETES MELLITUS

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad originada por la insuficiencia de insulina (hormona generada en las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas) o por la falta de acción de ésta. Lo que causa una serie de trastornos en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas, así como un desequilibrio hidroelectrolítico. Entre estos trastornos metabólicos ocupa un lugar primordial la hiperglucemia (aumento de la concentración de glucosa en la sangre) (26).

II.1.1 Historia

Los egipcios en el siglo XV A.C. describieron por primera vez en la historia de la humanidad los síntomas de la diabetes en los papiros del Ebers (27). La palabra diabetes que en griego (dia-baino) significa " correr a través de un sifón " la introdujo Aretaios de Cappadocia en el siglo II D.C. para describir un padecimiento que se caracterizaba por la gran cantidad de orina excretada, por ese motivo en Inglaterra durante mucho tiempo le llamaron "mal de orina" y en el siglo XVIII Matthew Dobson le agregó la palabra mellitus (sabor a miel) cuando descubrió la presencia de azúcar en la orina de algunos pacientes y para diferenciarla del padecimiento, en el cual también se excretan grandes cantidades de orina solo que insípida (ahora se sabe que es

debida a una deficiencia de hormona antidiurética). En 1889 se produjo la diabetes mellitus experimental cuando los investigadores alemanes Joseph Von Mering y Oskar Minkowski (28) observaron que al extirparles el páncreas a perros se desarrollaban los síntomas y signos característicos de la diabetes mellitus (polidipsia, poliuria, polifagia, pérdida de peso, cetosis, deficiente cicatrización y persistencia de las infecciones). En 1911 Ernest Lyman Scott extrajo con etanol ácido un principio activo del páncreas (29), en 1921 Frederik Banting y Charles M Best (30) lograron aislar a la Insulina y el 11 de enero de 1922 la aplicaron por primera vez a un niño diabético con glucemia de 500 mg/dL, glucosuria, cetonuria importantes y poliuria (3 a 5 litros de orina por día). La mejoría del enfermo fue inmediata. Hasta la fecha, la insulina es el único medicamento para el control de los pacientes con diabetes mellitus tipo I.

II.1.2 Prevalencia

Su prevalencia oscila de 2 a 4 % (31, 32). Su incidencia en el mundo aumenta año con año (33, 34), esto entre otros factores probablemente se deba tanto al avance en los métodos de detección, como al aumento en la longevidad de los diabéticos. Un estudio reciente realizado en la población urbana del D.F. n= 760 con edad media de 42 + 13 años muestra que 58 individuos (7.6%): 23 del sexo masculino y 35 del femenino resultaron diabéticos (35). La diabetes mellitus se

presenta con mayor frecuencia en mujeres que en hombres, y en la población urbana que en la rural. En los indios Pima se tiene registrada la mayor incidencia de esta enfermedad, en tanto que en los esquimales se tiene registrada la menor (36).

II.1.3 Clasificación

La diabetes mellitus se clasifica en primaria y secundaria (37). La primaria es más frecuente y aparece espontáneamente y se clasifica a su vez en diabetes mellitus insulino dependiente (DMID) o tipo I (antes conocida como diabetes juvenil) y diabetes mellitus no insulino dependiente (DMNID) o tipo II (antes conocida como diabetes del adulto) (cuadro 1). La diabetes mellitus secundaria es mas bien un síntoma de otra enfermedad (38).

II.1.4 Complicaciones

II.1.4.1 Inmediatas

Hiperglucemia .- Debido a la ausencia o a la falta de acción de la insulina, la glucosa no penetra en la mayor parte de las células para metabolizarse provocando un aumento de su nivel en la sangre (39).

Cetoacidosis .- Ante la incapacidad de utilizar glucosa en el interior de las células del paciente con diabetes se metabolizan lípidos y los productos de su degradación (acetona y los ácidos beta hidroxibutírico y acetoacético) se acumulan (frecuente en la diabetes Tipo I) (40, 41).

Cuadro 1. Características de los dos tipos de diabetes mellitus primaria

Característica	Diabetes insulino-dependiente (DMID).	Diabetes no-insulino dependiente (DMNID)
Edad en que se inicia	Generalmente antes de los 20 años.	Como regla después de los 30-40 años.
% de los diabéticos	10 %	90 %
Antecedentes familiares de diabetes.	50 % de los enfermos	Mayoría de los enfermos.
Peso al inicio de la enfermedad.	Normal o menor	Mayor en más de 2/3 de los enfermos.
Incidencia estacional	Otoño e invierno	Ninguna
Comienzo clínico	Rápido e inesperado	Lento, gradual
Gravedad	Severa	Leve
Cetoacidosis	Como regla	Como excepción
Estabilidad	Inestable	Estable
Inflamación de los islotes.	Presente al comienzo	Ausente
Anticuerpos anti-islote	Sí	No
Insulinemia	Baja o ausente	Alta, normal o baja
Asociación a HLA	Sí	No
Complicaciones vasculares	A los 5-10 años de enfermedad en la mayoría de los pacientes, a pesar del tratamiento.	Menos frecuente cuando hay control

Dieta	Obligatoria. Efectiva con insulina.	Obligatoria. En un tercio de los enfermos es suficiente sin medicamentos para el control de la glucemia.
Necesidades de tratamiento insulínico	En todos los pacientes	En algunos casos
Hipoglucemiantes orales	No son efectivos	Efectivos en la mayoría de los enfermos Román 1984 (26)

Coma hiperosmolar .- No cetósico debido al aumento en la osmolaridad del filtrado glomerular causado por la hiperglucemia, se produce la deshidratación por diuresis osmótica (más frecuente en la diabetes tipo II) (42).

II.1.4.2 Tardías

Macroangiopatía.- La hiperglucemia y la hiperinsulinemia aceleran el desarrollo de la arterioesclerosis que en las arterias coronarias es causa de infarto del miocardio y en otros vasos de trombosis y embolias, también es causa de gangrena en los miembros inferiores. Existe una mayor prevalencia de enfermedad coronaria en el paciente diabético que en el resto de la población (43).

La macroangiopatía, la hipertensión arterial y la hiperagregabilidad plaquetaria en el paciente diabético contribuyen al desarrollo de complicaciones en los vasos sanguíneos y en el corazón.

Nefropatía.- Es una complicación frecuente que puede causar la muerte, es debida al engrosamiento de la membrana basal celular y expansión del mesangio causando inicialmente albuminuria y posteriormente insuficiencia renal (44).

Complicaciones oculares.-En los pacientes con diabetes entre 80 y 100 % presentan retinopatía causada por lesiones fundamentales (aumento en la permeabilidad capilar, microaneurismas, hemorragias o exudados) o proliferativas (neovascularización, cicatrización o desprendimiento de retina) (45).

Neuropatía.-Es frecuente en el diabético, puede afectar prácticamente cualquier parte del Sistema Nervioso excepto el cerebro. La neuropatía diabética se clasifica en periférica y autonómica (46).

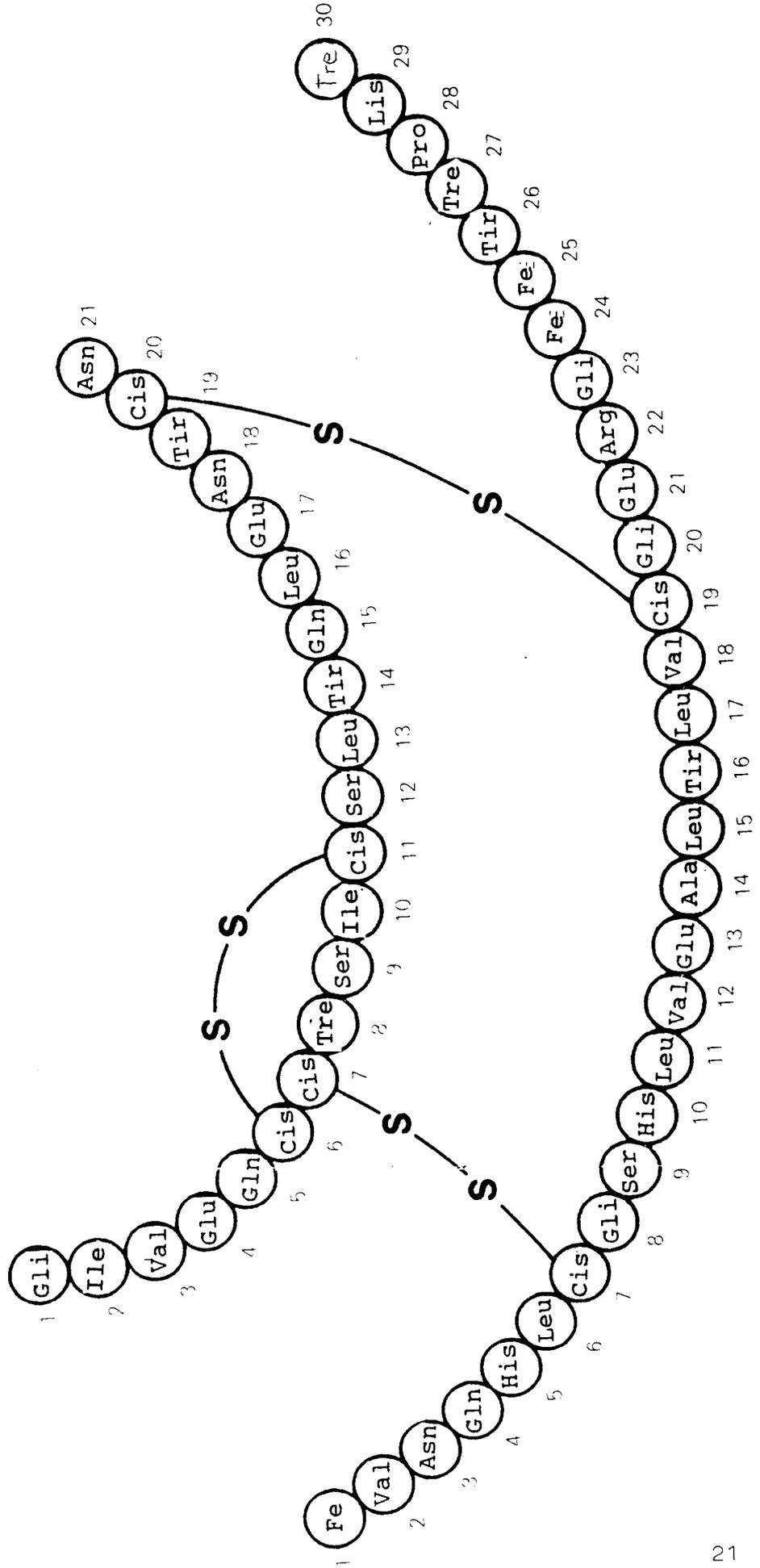
II.1.5 Tratamiento

La insulina es el único medicamento con el que se cuenta actualmente para el control del paciente con diabetes mellitus tipo I o insulino dependiente. Los hipoglucemiantes orales (sulfonilureas o biguanidas) son utilizados para el control del paciente con diabetes tipo II o no insulino dependiente.

II.1.5.1 Insulina

En 1960 Sanger (47) estableció la secuencia de aminoácidos de la insulina (cuadro 2). Las formas farmacéuticas de la insulina con el paso del tiempo se transformaron desde extractos pancreáticos, que contenían además de la insulina, proinsulina y otras hormonas pancreáticas hasta preparados de origen bovino o porcino con diversos grados de pureza "Insulina de un solo pico", purificada con cromatografía en Sephadex G50 o la denominada "monocomponente" purificada mediante cromatografía de intercambio iónico. Estos preparados son caros y no se consiguen fácilmente, a pH neutro se mejora su estabilidad y ya no es necesaria la refrigeración pero el exceso de calor y de luz solar los descompone. También existe insulina unida a

Cuadro 2. Secuencia de aminoácidos de la insulina humana.



diferentes compuestos (Zn, protamina o globina) para diversificar sus características farmacocinéticas (insulina de acción rápida, intermedia o prolongada) hasta insulina humana obtenida con técnicas de ingeniería genética a partir de ADN recombinante humano en bacterias. La vida media plasmática de la insulina administrada por vía intravenosa en el hombre es de aproximadamente 9 minutos. La insulina se destruye en el hígado y el riñon . El efecto de la insulina en la mayoría de las células del organismo es estimular el transporte de metabolitos y de iones a través de la membrana, así como la biosíntesis en general (hormona anabólica) y el crecimiento celular (48). La insulina actúa en un receptor que se encuentra en la membrana de las células (49) , el cual se ha purificado parcialmente (50), se ha encontrado que la insulina inhibe a la adenilato ciclasa (51) y estimula a la fosfodiesterasa (52) y ésto explica la capacidad de la hormona para disminuir los niveles de AMP cíclico.

La insulina humana tiene un peso molecular de 5808 y está formada por dos cadenas polipeptídicas, A y B unidas por dos puentes disulfuro. En la cadena A se encuentra un tercer puente disulfuro intracatenario (cuadro 2). En el comercio se encuentran preparados de insulina de origen animal con actividad específica semejante a la del humano (22 a 27 unidades/mg) debido a que sus estructuras son muy semejantes (cuadro 3) (53).

Cuadro 3. Diferencias en la secuencia de aminoácidos en la insulina respecto a la humana.

Especie	Posición en la cadena A			Posición en la cadena B
	8	9	10	30
Cerdo perro cachalote	Tre	Ser	Ile	Ala
Conejo	Tre	Ser	Ile	Ser
Bovinos cabra	Ala	Ser	Val	Ala
Oveja	Ala	Gli	Val	Ala
Caballo	Tre	Gli	Ile	Ala
Ballena Sei	Ala	Ser	Tre	Ala

Ganong 1988 (53)

Reacciones adversas

La falta de alimento, el ejercicio físico intenso o la sobredosificación de insulina pueden provocar en el paciente en tratamiento con insulina un estado hipoglucémico. Si éste no se revierte con la secreción de hormonas hiperglucemiantes (glucocorticoides, catecolaminas, glucagón) o por la administración de glucosa o de glucagón y la hipoglucemia continúa y la persona cae en coma, en el cual el consumo de oxígeno del cerebro desciende a la mitad, se presentan convulsiones, se puede desarrollar daño cerebral irreversible y muerte (54).

También se pueden presentar reacciones alérgicas, locales o sistémicas y atrofia del tejido celular subcutáneo en el sitio de la inyección de la insulina.

Si tomamos en cuenta que además de las reacciones adversas, la insulina por su naturaleza proteica requiere de una administración parenteral (incomoda y dolorosa) y por su vida media tan corta, la frecuencia de administración no es mayor a 24 horas. No se puede negar que que ha salvado la vida y ha mejorado la calidad de la vida de millones de seres en el mundo, pero todavía se encuentran muchos casos de pacientes que han formado anticuerpos contra la insulina o con problemas de reconocimiento a nivel de receptor.

II.1.5.2 Hipoglucemiantes Orales

II.1.5.2.1 Sulfonilureas

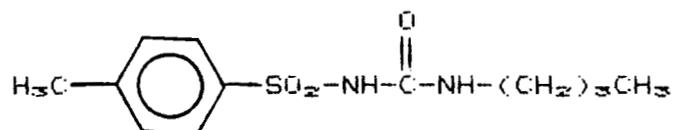
Las sulfonilureas desde el punto de vista químicos, son arilsulfonilureas con sustituciones en el grupo arilo y urea (cuadro 4). Se descubrieron en 1942 cuando se observó que una sulfonamida utilizada para el tratamiento de la fiebre tifoidea producía hipoglucemia (55). Su mecanismo de acción consiste en estimular al tejido insular del páncreas para secretar insulina, causan desgranulación de las células beta. No tienen efecto en pacientes totalmente pancreatectomizados y en diabéticos insulino-dependientes, también tienen la capacidad de inhibir la liberación de catecolaminas . No tienen que entrar a la célula para ejercer su acción y hay evidencia de que aumentan la sensibilidad de las células beta al secretagogo normal (glucosa). Las sulfonilureas se absorben fácilmente del tracto gastrointestinal .

Reacciones adversas

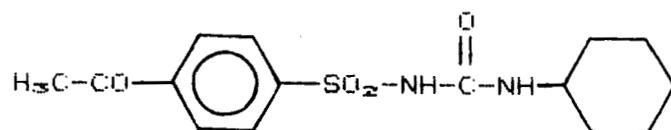
Las sulfonilureas dosificadas inadecuadamente pueden producir hipoglucemia, coma y muerte del paciente, están contraindicadas cuando hay nefropatías o hepatopatías y producen el efecto denominado disulfiram. Se ha comprobado que producen teratogénesis en animales y en humanos se han descrito reacciones hematológicas, cutáneas y gastrointestinales posteriores a su administración.

Cuadro 4. Estructura química de algunas sulfonilureas.

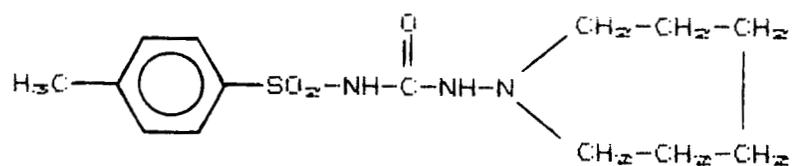
Tolbutamida



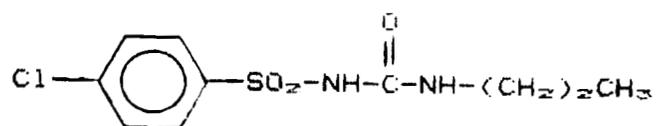
Acetohexamida



Tolazamida



Cloropropamida



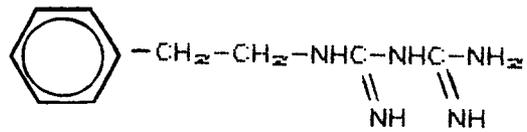
II.1.5.2.2 Biguanidas

Su desarrollo se comenzó en 1918 cuando Watanabe descubrió que la guanidina (cuadro 5) (56) causaba hipoglucemia.

Las biguanidas producen hipoglucemia sin causar cambios detectables en la concentración de insulina plasmática, aunque para manifestar su acción requieren la presencia de ésta. Se ha demostrado experimentalmente la capacidad de este grupo de fármacos de inhibir el metabolismo oxidativo provocando un aumento en la captación de glucosa para metabolizarla en forma anaerobia hasta ácido (+)láctico, también produce una disminución en la unión de la insulina a las proteínas del plasma (57). Sin embargo hasta la fecha hay controversia respecto a su utilidad clínica debido a la tendencia a producir acidosis láctica en los pacientes tratados con ellas (58).

Es indudable el beneficio que han recibido millones de diabéticos en todo el mundo con el desarrollo de metodologías para la extracción purificación y producción a gran escala de la insulina y los hipoglucemiantes orales. Sin embargo, ninguno de ellos ha probado ser el medicamento ideal.

Cuadro 5. Estructura química de la Fenformina (Biguanida)



II.2 PLANTAS MEDICINALES

A diferencia de Platón, Aristóteles era un experimentalista y sus doctrinas influyeron en el desarrollo científico y médico hasta la Edad Media y el Renacimiento. Sus enseñanzas acerca de la necesidad de observación y experimentación que requiere la medicina se manifiesta en el trabajo de su discípulo Teofrasto que describió cerca de 500 plantas medicinales en una época en la que el efecto del tratamiento era lo que importaba y no las causas de la enfermedad. En Roma, Galeno (129-200) estudioso de las plantas preparaba sus propias prescripciones y en esta forma preparó "Theriac" que contenía más de 70 componentes y servía para "prevenir la enfermedad", la muerte negra y las mordidas venenosas. Durante la edad media los médicos no clericales dejaron de existir. Se fundaron monasterios como el Benedictino de Nursia en Monte Casino, para la cura del enfermo, pero, debido a que el tratamiento de la enfermedad solo era posible por la oración y la intervención divina, se prohibió la práctica de la medicina, muchos procedimientos médicos y quirúrgicos se perdieron, la farmacología fue abandonada y se volvió a la herbolaria. La terapéutica árabe, cuyas raíces se encuentran en Grecia, Persia e India confería mucha importancia al estudio de los medicamentos por lo que se le considera precursora de la farmacología. Los Arabes estudiaron con cuidado la materia médica de Discórides, que versaba sobre herbolaria (siglo I) y era tal el aprecio que tenían por sus medicamentos que los llamaban

"manos de los dioses" (59). En México, el Códice de la Cruz-Badiano (60) fue quizá el primer libro médico, ya que en la época prehispánica la población nativa registraba costumbres y tradiciones en códices. La mayoría de ellos fueron destruidos durante la conquista y los que se conservaron se encuentran en el extranjero sin posibilidades aparentes de ser devueltos. El códice de la Cruz-Badiano revela los secretos de la Medicina Mexica prehispánica. Badiano tradujo el códice escrito por Martín de la Cruz, médico xochimilca del Colegio de Santa Cruz de Tlatelolco probablemente escrito en náhuatl. Francisco de Mendoza se interesaba en mandar nuevas especies de la Nueva España al viejo mundo como el gengibre, raíz de la China (*Smila pseudochina*) y el Guayacán (*Guayacum officinalis*). Así se interesó en el manuscrito de la Cruz-Badiano (61).

Los remedios preparados con vegetales reciben el nombre de "preparados galénicos" y a ellos recurren millones de personas en todo el mundo. Los vegetales se preparan en forma de tisanas, extractos (macerado, percolado, digestión, infusión o decocción), tinturas, linimentos, jarabes, etc.

La OMS recomienda en los países en vías de desarrollo identificar las plantas medicinales de diversas localidades o los extractos derivados de ellas que puedan formar parte de las listas nacionales de medicamentos o sustituir algunos de los productos farmacéuticos importados de otros países (62). Existen al menos 119 sustancias de origen vegetal que pueden considerarse fármacos importantes (cuadro 6) (1).

Cuadro 6. Fármacos importantes de origen vegetal

Fármaco	Uso clínico	Planta de procedencia
Arecolina	Antihelmíntico	<i>Areca catechu</i> L.
Atropina	Anticolinérgico	<i>Atropa belladonna</i> L.
Cafeína	Estimulante del SNC	<i>Camellia sinensis</i> L.
Cocaína	Anestésico local	<i>Erythroxylum coca</i> Lamk.
Codeína	Analgésico antitusígeno	<i>Papaver somniferum</i> L.
Colchicina	Antitumoral antigotoso	<i>Colchicum autumnale</i> L.
Digitalina	Cardiotónico	<i>Digitalis purpurea</i> L.
Digitoxina	Cardiotónico	<i>Digitalis purpurea</i> L.
Digoxina	Cardiotónico	<i>Digitalis lanata</i> Ehrh
Efedrina	Simpaticomimético	<i>Ephedra sinica</i> Stapf.
Emetina	Amebicida, emético	<i>Cephaelis ipecacuanha</i> (Brotero) A. Richard
Escopolamina	Sedante	<i>Datura metel</i> L.
Fisostigmina (eserina)	Inhibidor de la co-linesterasa	<i>Physostigmina venenosum</i> Balf.
L-Dopa	Antiparkinsoniano	<i>Mucuna deeringiana</i> (Bort) Merr.
Morfina	Analgésico	<i>Papaver somniferum</i> L.
Nicotina	Insecticida	<i>Nicotiana tabacum</i> L.
Ouabaína	Cardiotónico	<i>Strophantus gratus</i> Baill.
Papaína	Proteolítico mucolítico	<i>Carica papaya</i> L.
Papaverina	Relajante del musculo liso	<i>Papaver somniferum</i> L.

Farnsworth 1989 (1)

127876

Es motivo de controversia la idea de continuar empleando las preparaciones tradicionales sin intentar separar los principios activos. Sin embargo, existen razones toxicológicas debido a la presencia de compuestos tóxicos en muchas plantas medicinales (63,64,65) , como por ejemplo, los alcaloides tipo pirrolizidina, agentes alquilantes con características mutagénicas y carcinogénicas. Por otra parte, el aumento en el conocimiento de la estereoisomería y de las propiedades biológicas de muchos compuestos de origen natural, abren la posibilidad de obtener compuestos con pureza quiral para usarse en la industria alimenticia, farmacéutica etc. (66).

II.2.1 Plantas antidiabéticas

La medicina tradicional herbolaria ha proporcionado interesantes compuestos de interés farmacológico como efedrina, cocaína, digoxina, atropina, vincristina, vinblastina, morfina, codeína, escopolamina, reserpina, papaverina, yohimbina, quinina, quinidina, ergonovina, ergotamina etc. Sin embargo, en las farmacopeas no se encuentran descritos compuestos hipoglucemiantes de origen vegetal. La razón puede no ser una sola, y tal vez se deba tanto a la falta de un modelo experimental animal adecuado como a la multifactorialidad del cuadro diabético. A pesar de ello se han reconocido en todo el mundo una gran cantidad de plantas con propiedades hipoglucemiantes (cuadro 7) (67) y de algunas de ellas ya se han logrado aislar los principios

Cuadro 7. Algunas plantas con efecto hipoglucemiante y su localización.

Planta	Localización	Parte usada
<i>Agrimonia eupatoria</i>	Europa	Hojas
<i>Aloe vera</i>	Occidente	Aerea
<i>Amanita phalloides</i>	Europa	Frutos
<i>Artemisia abbysinica</i>	Occidente	Aerea
<i>Cominum nigrum</i>	Asia	Semillas
<i>Opuntia styreptacantha</i>	Centroamérica	Tallos
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Europa	Vaina

Bailey y col. 1989 (14)

activos (cuadro 8) (14). En México la población utiliza más de 100 plantas (cuadro 9) (68,69) para el control de esta enfermedad. Acerca de ellas se han realizado estudios botánicos y etnobotánicos pero solo en una minoría se han realizado pruebas farmacológicas (70,71,72,73). De 40 de las plantas usadas como "antidiabéticas" por la población mexicana y de las cuales se estudió su forma tradicional de preparación (decocción o jugo) en conejos con hiperglucemia temporal producida por la administración parenteral de glucosa (74), el *Psacalium peltatum* se encuentra entre las que tuvieron mayor efecto hipoglucémico. La decocción de esta planta causó una disminución de 27.9 % del area bajo la curva de tolerancia a la glucosa respecto al control con agua (cuadro 10).

II.2.1.1 *Psacalium peltatum*

Los indios Yaqui llamaron "Matarique" (maturi significa mata dolor) a una planta cuya raíz usaban para el control del dolor . En 1887 Mr Guereña la recomendó para todo tipo de dolor, contra la tifoidea, purgante, antirreumática antigotosa etc. Actualmente " Matarique" es el nombre vulgar de un complejo de 5 plantas: *Psacalium decomposita* (Gray) Robins & Brett, *Psacalium peltatum* (H.B.K.), *Psacalium sinuatum* (Cerv), *Acourtia thurberi* (Gray) y *Psacalium* sp. con características semejantes y se usan en el control empírico de la diabetes mellitus.

Cuadro 8. Naturaleza química de los principios activos de algunas plantas hipoglucemiantes.

Planta	Parte activa	Sustancia activa
<i>Aconitum carmichaeli</i>	Raíz	Polisacárido
<i>Allium cepa</i>	Bulbo	Disulfuros de alquilo
<i>Allium sativum</i>	Bulbo	Disulfuros de alquilo
<i>Cyamopsis tetragonolobus</i>	Semillas y vaina	Alcaloides
<i>Dioscorea japonica</i>	Rizoma	Polisacárido
<i>Ephedra distachya</i>	Aerea	Polisacárido
<i>Ficus bengalensis</i>	Tallo	Derivado del ac. aminobutírico
<i>Momordica charantia</i>	Aerea	Alcaloides tipo quinolizidina

Bailey y col. 1989 (14)

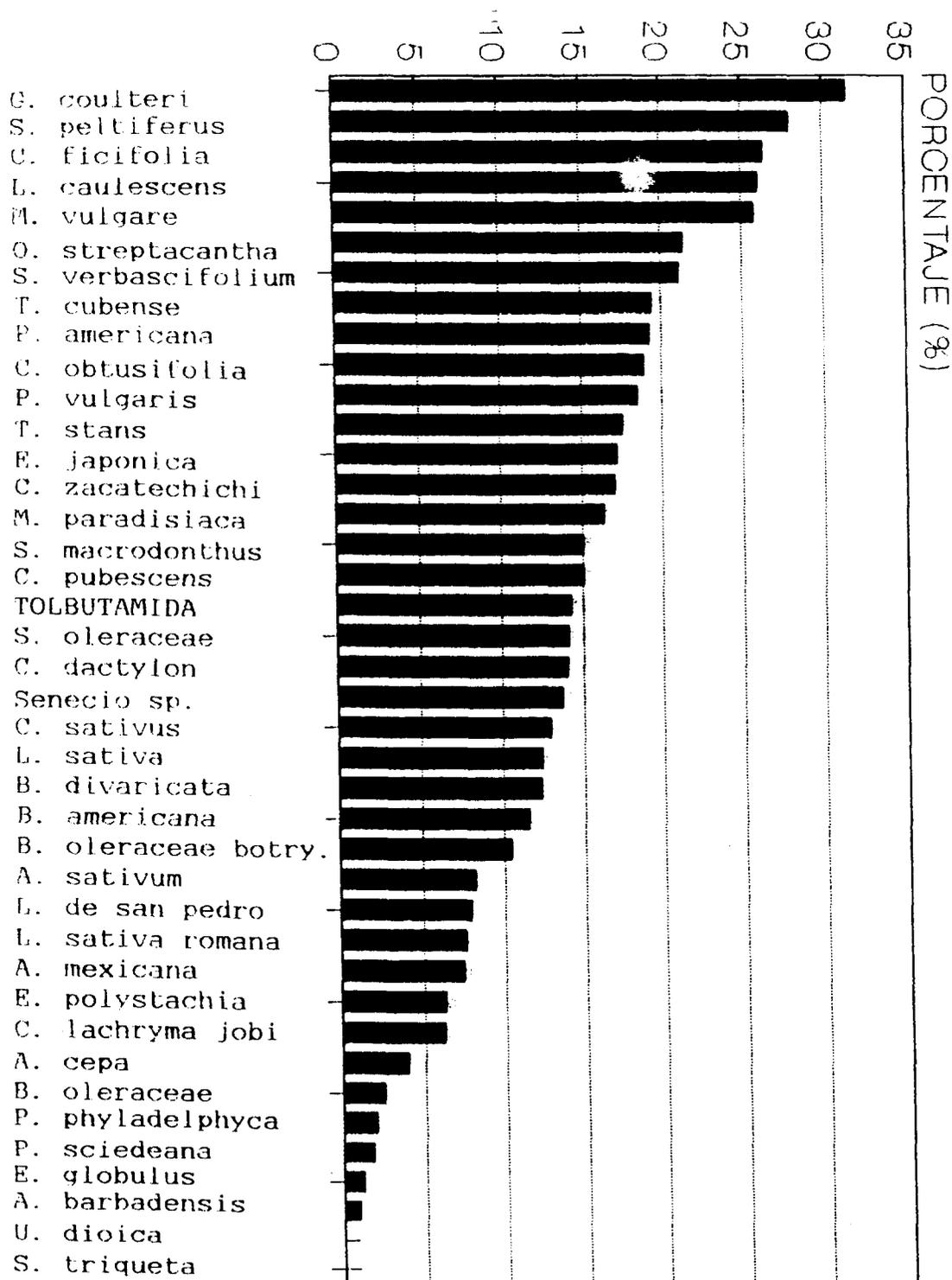
Cuadro 9. Algunas de las plantas usadas en México como antidiabéticas.

Ajenjo	<i>Artemisa absitium</i> L.
Alcachofa	<i>Cynara scolymus</i> L.
Boldo	<i>Peumus boldus</i> Molina
Cebolla	<i>Allium cepa</i> L.
Chaparro amargo	<i>Castella texana</i> (Torr & Gray) Rose
Cuachalalate	<i>Amphipterygium adstringens</i> (Schlecht.)
Diente de León	<i>Taraxacum officiale</i> Lam.
Estafiate	<i>Artemisia mexicana</i> Willd ex Speng
Guayacán amarillo	<i>Guaiacum</i> sp.
Malabar	<i>Solanum brevantherum</i>
Matarique	<i>Psacalium decomposita</i> (Gray) H. Robins & Bretell
Nopal	<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller
Prodigiosa	<i>Brickellia squarrosa</i> (Cav.) Robins. & Seat.
Sábila	<i>Aloe</i> sp.
Tamarindo	<i>Tamarindus indica</i> L.
Tejocote	<i>Crataegus</i> sp.
Tepozán	<i>Buddleia</i> sp.

Legorreta

1989 (68)

Cuadro 10. Disminución en % del area bajo la curva de tolerancia a la glucosa en conejos previa administración de cada una de las 40 plantas más usadas por la población mexicana como "antidiabéticas".



En los mercados de plantas medicinales de México se puede conseguir la raíz de *Psacalium peltatum* (H.B.K.) como un sustituto del matarique de Chihuahua (*Psacalium decomposita* (Gray) Robins & Brett) la cual es más difícil de conseguir y es más costosa (69).

El *Psacalium peltatum* (H.B.K.) Cass. tiene como sinónimos: *Cacalia peltata* (H.B.K.) y *Senecio peltiferus* (Hemsl.). Es una hierba perenne que crece en la Sierra Madre Oriental, Sierra Madre Occidental y en el Centro de México (75). Mide de 0.3 a 1.3 m de alto, su raíz es gruesa y fibrosa, los tallos tienen hojas y brácteas involucrales esparcida, densamente pilosas o hirsutas, con pelos multicelulares. El tallo principal estriado-acanalado y meduloso, lanoso en la base cerca de la raíz, hojas basales 3 o 4 en roseta, con peciolo de 6 a 42 cm de largo, láminas suborbiculares, peltadas y palmatinerves, de 10 a 30 cm de diámetro con 6 a 8 nervaduras principales, profundamente multilobadas, con 7 a 9 lóbulos primarios, divididos en 3 a 7 lóbulos secundarios y éstos a su vez con 3 o 4 lóbulos o dientes más pequeños, coriáceas. Hojas caulinares intermedias similares a las basales pero frecuentemente más reducidas, subpeltadas y semiamplexicaules: inflorescencia paniculado-corimbosa, las ramillas y los pedicelos a veces densamente glandular-estipitadas. Las ramas originándose en las axilas de brácteas foliáceas, sésiles, ovaladas o en ocasiones angostamente ovaladas, ocasionalmente lineares: cabezuelas discoidales 10 a 100, de 1 a 1.5 cm de alto, sobre pedúnculos

de 0.3 a 2 cm de largo: involucreo campanulado o ligeramente cilíndrico, sus brácteas de 8 a 14, oblongoelípticas, de 8 a 12 mm de largo, acuminadas en el ápice, café rojizas, cálculo con 2 a 5 brácteas angostamente ovadas a lineares, frecuentemente más largas y anchas que las brácteas involucrales: receptáculo plano y ligeramente alveolado: Flores 10 a 24 , de color crema a café o algo purpúreas, con olor desagradable, de 14 a 21 mm de largo: frutos aquenios maduros elipsoides a claviformes, de 3 a 6 mm de largo, multiestriados, glabros a tomentulosos, de color crema o verdosos: cerdas del vilano blancas, de 6 a 9 mm de largo. Existen tres variedades de *Psacalium peltatum*, de las cuales solamente la típica se encuentra en el Valle de México (76,77).

III JUSTIFICACION

Diversos grupos de médicos, químicos, biólogos, botánicos etc. tienen ideas opuestas respecto a la utilidad o necesidad de identificar y purificar compuestos, con actividad farmacológica de origen vegetal, o a continuar usando las fórmulas tradicionales a base de vegetales como lo ha hecho la población durante siglos en algunos casos. La controversia es originada por diversos factores entre los que se pueden mencionar que algunas plantas se encuentran en peligro de extinción debido a su popularidad como medicamentos especialmente cuando se usa la raíz. Por otra parte, cuando una persona recurre a una preparación tradicional a base de plantas, en la mayoría de los casos está introduciendo en su organismo varios compuestos que junto con el responsable del efecto terapéutico necesitan ser transportados, metabolizados y eliminados del organismo. Algunos pueden ser farmacológicamente inertes, otros pueden tener características nutritivas, otros pueden producir toxicidad que se manifiesta hasta después de algún tiempo de estar tomando la preparación por lo que la gente no asocia los efectos dañinos a su verdadera causa. Tal es el caso de los alcaloides tipo pirrolizidina, compuestos capaces de insertar grupos químicos (metilos) en el material genético produciendo cáncer o mutaciones. Tomando en cuenta que *Psacalium peltatum* es de las plantas más usadas por la población como "antidiabéticas" y con mayor actividad hipoglucemiante corroborada experimentalmente, se consideró

importante profundizar en el estudio de la influencia de la decocción tradicional de la raíz de esta planta en la glucemia de animales de laboratorio para comenzar a dilucidar sobre los probables mecanismos involucrados en la acción hipoglucemiante detectada. También se consideró necesario investigar extractos de la planta y fracciones de éstos para iniciar estudios dirigidos hacia la obtención de la o las sustancias con actividad sobre la glucemia, así como hacia la detección de compuestos potencialmente tóxicos para el ser humano.

127876

IV HIPOTESIS

La raíz de *Psacalium peltatum* (H.B.K.) contiene sustancias que producen cambios en la concentración de glucosa en la sangre y que pueden ser obtenidos empleando una metodología extractiva basada en el empleo de disolventes de polaridad creciente conservando sus propiedades detectadas en el modelo experimental.

V OBJETIVO

1. Estudiar la influencia de la decocción de la raíz de *Psacalium peltatum* (H.B.K.) sobre la glucemia de animales de laboratorio sanos y diabéticos.

2. Obtener extractos acuosos y orgánicos de la raíz de *Psacalium peltatum* (H.B.K.) y estudiar su efecto en la glucemia de animales de laboratorio.

3. Obtener fracciones del extracto con actividad hipoglucemiante y estudiar su efecto en la glucemia.

4. Investigar en los extractos la presencia de compuestos potencialmente tóxicos.

VI MATERIAL Y METODOS

VI.1 MATERIAL

VI.1.1 Material biológico

VI.1.1.1 Animales

54 conejos Nueva Zelanda adultos machos de 3 ± 0.5 Kg de peso corporal, alimentados con nutricubos "Purina" y agua *ad libitum*.

82 ratas Wistar adultos macho de 300 ± 50 g de peso corporal, alimentados con nutricubos "Purina" y agua *ad libitum*.

VI.1.1.2 Planta

Psacalium peltatum (H.B.K.) en etapa de floración.

VI.1.2 Equipo de laboratorio

Reflectómetro Reflolux II-M (Boehringer Mannheim).

Tiras reactivas Haemo-Glukotest 20-800.

Jeringas de 1,3,5,10 y 20 ml

Agujas hipodérmicas

Rotavapor "Buchi"

Liofilizadora Edwards modelo Modulyo piranilo

Balanza granataria

Material de vidrio : embudos, matraces erlenmeyer y de bola, pipetas graduadas y pasteur, probetas.

Placas para cromatografía en capa fina.

Equipo de RMN Varian-300S

VI.1.3 Compuestos

Solución salina isotónica esterilizada y libre de pirógenos.

Aceite comestible de Girasol "1-2-3"

Solución de glucosa al 50% (Solución inyectable esterilizada y libre de pirógenos) Laboratorios PISA S.A. de C.V.

Aloxana monohidratada "Sigma Chemical company".

Hexano R.A.

Diclorometano R.A.

Metanol R.A.

Tetrametilsilano

VI.2 METODO

VI.2.1 Colecta e identificación de la planta

La planta en estudio se colectó en etapa de floración en agosto de 1991 (después de las lluvias) en el Cerro de Santa Catarina del Monte, a 2725 m sobre el nivel del mar, en un bosque de encinos, perturbado. Se corroboró su clasificación botánica y se elaboraron los ejemplares de herbario que se archivaron con la clave 27034, 73035 y 77036 en el herbario de la Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa "UAM-I".

Se separó la raíz, se dejó secar en la obscuridad a temperatura ambiente durante 4 semanas, se molió y se guardó en refrigeración en recipientes de vidrio hasta su utilización.

VI.2.2 Preparaciones de la raíz

VI.2.2.1 Preparación de la decocción

La decocción se preparó en la forma en que tradicionalmente lo hace la población . Se pesó una muestra de 133 g y se dejó hervir en 1 litro de agua a fuego lento durante 10 minutos, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró antes de su utilización. Se dejó evaporar a sequedad una muestra de 10 ml para conocer el peso seco. Se encontró que contenía $1 \% \pm 0.2$ p/v (n=4).

VII.2.2 Preparación de los extractos

Se pesó un muestra de 100 g de la raíz seca y molida, se dejó macerar en 300 ml de hexano durante una semana (cambiando el solvente cada 24 horas) y se filtró. El filtrado se evaporó a sequedad y se guardó en refrigeración hasta su utilización. Al residuo vegetal se le agregó diclorometano y extrajo en condiciones similares durante una semana. Se repitió el procedimiento empleando metanol , finalmente se dejó hervir 10 minutos con agua para terminar la extracción de los compuestos. Para las pruebas biológicas cada uno de los 4 extractos se disolvió en el vehículo adecuado:

Los extractos con hexano y con diclorometano se disolvieron en aceite vegetal y el extracto con metanol y con agua en solución salina isotónica en todos los casos la concentración final fue de 1% p/v.

VII.2.3 Obtención de tres fracciones

Se hicieron cromatografías en capa fina a muestras del extracto con diclorometano con el fin de encontrar el sistema de disolventes adecuado para obtener una mejor separación. Una vez determinadas las condiciones se hizo la cromatografía en columna del extracto con diclorometano disuelto con diclorometano/hexano 1:1 v/v. La columna se empacó con gel de sílice 60 (tamaño de partícula 0.063-0.2 mm) y se eluyó inicialmente con diclorometano/hexano 1:1 v/v para obtener la "fracción 1", a continuación se eluyó con diclorometano para obtener la "fracción 2" y posteriormente con diclorometano/metanol 1:1 v/v para obtener la "fracción 3". Cada una de las 3 fracciones, se colectó en recipientes separados se evaporó el disolvente y se guardaron en refrigeración hasta su utilización. Se preparó una solución al 1 % p/v en aceite vegetal para las pruebas biológicas.

VII.2.4 Obtención de alcaloides

El extracto con diclorometano se disolvió en metanol y se acidificó con ácido clorhídrico hasta pH=1, se hicieron 3 extracciones con diclorometano en un embudo de separación eliminándolas y la fase acuosa se alcalinizó con NH₄OH hasta pH de 8: se hicieron 3 extracciones con diclorometano para recuperar el alcaloide. Estas 3 últimas fracciones se mezclaron, se evaporó el disolvente y se guardó en refrigeración hasta su utilización. Se preparó una solución al 1% p/v en aceite vegetal para las pruebas biológicas.

La identificación de alcaloides se realizó con el reactivo de Meyer (1.36 g de HgCl y 5 g de KI en 100 ml de agua) por la formación de un precipitado en medio ácido. También se obtuvo una muestra de los alcaloides extraídos por el método descrito para su estudio de Resonancia Magnética Nuclear a temperatura ambiente en CDCl₃ usando tetrametilsilano como referencia interna a una frecuencia de 300 MHz.

VI.2.3 Ensayos biológicos

VI.2.3.1 En conejos

Se estudiaron 54 conejos con las características citadas en la página 8. Se formaron 3 grupos de 18 conejos cada uno. Antes de cada estudio los conejos se sometieron a ayuno de 18 horas y se pesaron. A cada grupo de conejos se le realizó un estudio cada 7 días durante 4 semanas de la manera siguiente:

1^a Semana.- Estudio control con administración gástrica de agua a razón de 4 ml/kg de peso corporal.

2^a Semana.- Estudio con administración gástrica de suspensión de tolbutamida a razón de 20 mg/4 ml de agua/kg de peso corporal.

3^a Semana.- Estudio con administración gástrica de la decocción de *Psacalium peltatum* a razón de 4 ml/kg de peso corporal.

4^a Semana.- Estudio con administración gástrica de agua en la dosis citada e insulina por vía subcutánea a razón de 0.4 U.I./kg de peso corporal.

VI.2.3.1.1 Sanos con carga de glucosa

Los ensayos biológicos se realizaron en este grupo de conejos de la forma siguiente:

1. Determinación de la glucemia inicial (en ayunas).
2. Administración de agua, tolbutamida, decocción de *Psacalium peltatum*, agua o insulina seguida de administración subcutánea de solución de glucosa al 50 % a razón de 4 ml/kg de peso corporal.
3. Determinación de la glucemia a los 60 minutos y repetición de la administración de la solución de glucosa en la misma forma y volumen.
4. Determinación de la glucemia en los minutos 120, 180, 240 y 300 minutos.

La glucemia se determinó en muestras sanguíneas (obtenidas de la vena marginal de la oreja izquierda, mediante corte de 2-3 mm con navaja "Gillette") con tiras reactivas "Haemogluco-test" 20-800 en el reflectómetro "Reflolux II-M" del Boeringer Manheim (Método enzimático glucosa-oxidasa peroxidasa).

VI.2.3.1.2 Con diabetes moderada
(Glucemia en ayunas de 150 a 350 mg/dL)

La diabetes se les indujo a estos conejos mediante la administración intravenosa de aloxana en una dosis de 150 mg/kg por el método de Duffy (78). Después de un período de estabilización de una semana se les estudió de la forma siguiente:

1. Determinación de la glucemia inicial (en ayunas).
2. Administración de agua, tolbutamida, decocción de *Psacalium peltatum* o agua e insulina en las dosis y vías ya citadas.
3. Determinación de la glucemia en los minutos 60,120,180,240 y 300 .

VI.2.3.1.3 Con diabetes severa (glucemia en ayunas superior a 350 mg/dL)

A estos conejos se les indujo la diabetes y se les estudió en la forma ya descrita para el grupo anterior.

VI.2.3.2 En ratas

VI.2.3.2.1 Sanas con glucemia normal

Se hicieron 3 grupos de 7-16 ratas con ayuno de 18 horas y se estudiaron de la manera siguiente:

1. Determinación del peso corporal de los animales e inducción de anestesia con pentobarbital sódico (35 mg/kg) por vía intraperitoneal (I.P.).
2. Determinación de la glucemia inicial (en ayunas).

3. Administración de solución salina (SSI), decocción de *Psacalium peltatum* por vía I.P. a razón de 4 ml/kg de peso corporal o suspensión de tolbutamida por la misma vía y a razón de 30 mg/4ml de agua/kg de peso corporal.

4. Determinación de la glucemia cada 60 minutos durante las 5 horas siguientes. La glucemia se determinó por el método ya citado en muestras sanguíneas obtenidas de la cola mediante un corte de 2-3 mm con navaja "Gillette".

VI.2.3.2.2 Sanas con carga de glucosa

Se hicieron 3 grupos de 7 ratas cada uno con ayuno de 18 horas y se estudiaron de la manera siguiente:

1. Determinación del peso corporal de los animales e inducción de anestesia con pentobarbital sódico (35 mg/kg) por vía I.P.
2. Determinación de la glucemia inicial (en ayunas).
3. Administración de SSI, decocción de *Psacalium peltatum* o de tolbutamida por la vía y dosis citadas para el grupo anterior o administración de aceite vegetal como control o de los extractos, fracciones y alcaloides por la misma vía y dosis.
4. Administración subcutánea de solución de glucosa al 50 % a razón de 4 ml/kg de peso corporal.
5. Determinación de la glucemia cada 60 minutos durante las cinco horas siguientes.

VI.2.3.2.3 Con diabetes severa

La diabetes se les indujo a estas ratas mediante la administración intraperitoneal de aloxana a una dosis de 150 mg/kg por el método de Duffy (78). Se hicieron grupos de 4-10 ratas con ayuno de 18 horas. Después de un periodo de estabilización de una semana se les estudió de la manera siguiente:

1. Determinación del peso corporal de los animales e inducción de anestesia con pentobarbital sódico (35 mg/kg) por vía I.P.
2. Determinación de la glucemia inicial (en ayunas).
3. Administración de SSI, decocción de *Psacalium peltatum* o de tolbutamida en las dosis y vía citadas en el grupo anterior.
4. Determinación de la glucemia cada 60 minutos durante las cinco horas siguientes.

VI.2.4. Análisis de los resultados

Los resultados obtenidos en los ensayos biológicos realizados en conejos y en ratas se sometieron a análisis estadístico. Se calculó:

1. La media aritmética (M)
2. La desviación estándar (D.E)
3. La t de Student (t) de una cola
4. La significancia de la diferencia (p). Las diferencias se consideraron significativas con $p < 0.05$.

127876

VII RESULTADOS

VII.1 En conejos

VII.1.1 Sanos con carga de glucosa

Los resultados de la investigación muestran que la glucemia de los conejos en ayunas es de 77.6 ± 6.1 mg/dL (n=36) (Tabla 1). Después de la administración de la glucosa, en el control con agua, la glucemia se incrementa y a las dos horas alcanza su valor máximo de 227 ± 35 mg/dL, lo que representa un incremento de 192.5 ± 15 % respecto a la glucemia inicial. Posteriormente, la glucemia disminuye en forma gradual, sin regresar a su valor inicial. A las cinco horas, se encuentra por arriba de éste en aproximadamente 40 % (Tabla 1, Fig.1).

La administración de la decocción de *Psacalium peltatum* hace que el incremento de la glucemia sea significativamente menor que en el control con agua ($p < 0.05$) en todos los tiempos estudiados de la curva de tolerancia a la glucosa y también resultó significativamente menor respecto al estudio con tolbutamida en las horas 1,2 y 3 ($p < 0.05$) (Tabla 1, Fig.1). El valor máximo de la glucemia alcanzado 2 horas después de la administración de la decocción de *Psacalium peltatum* es de 159 ± 17 mg/dL, lo que representa un incremento de 102.5 ± 11 % respecto al valor de glucemia inicial y comparado con el porcentaje de incremento máximo del control se observa que es inferior en un 43 % (Fig.2).

TABLA 1. Glucemia de conejos sanos con carga de glucosa después de la administración de la decocción de *Psacalium peltatum*.

GLUCEMIA (M ± D.E.) mg/dL

Estudio	inicial	1h	2hs	3hs	4hs	5hs
Agua	78 ± 6	185 ± 25	227 ± 35	185 ± 28	141 ± 20	108 ± 12
Tolbutamida	76 ± 9 NS	152 ± 20	182 ± 25	149 ± 23	110 ± 18	81 ± 10
<i>P.peltatum</i>	79 ± 8 NS	133 ± 16	159 ± 17	132 ± 23	107 ± 21	78 ± 11
Insulina	76 ± 6 NS	57 ± 11	104 ± 34	86 ± 26	79 ± 18	88 ± 17

NS = No significativa la diferencia respecto al control (agua) p < 0.05 (n=18)

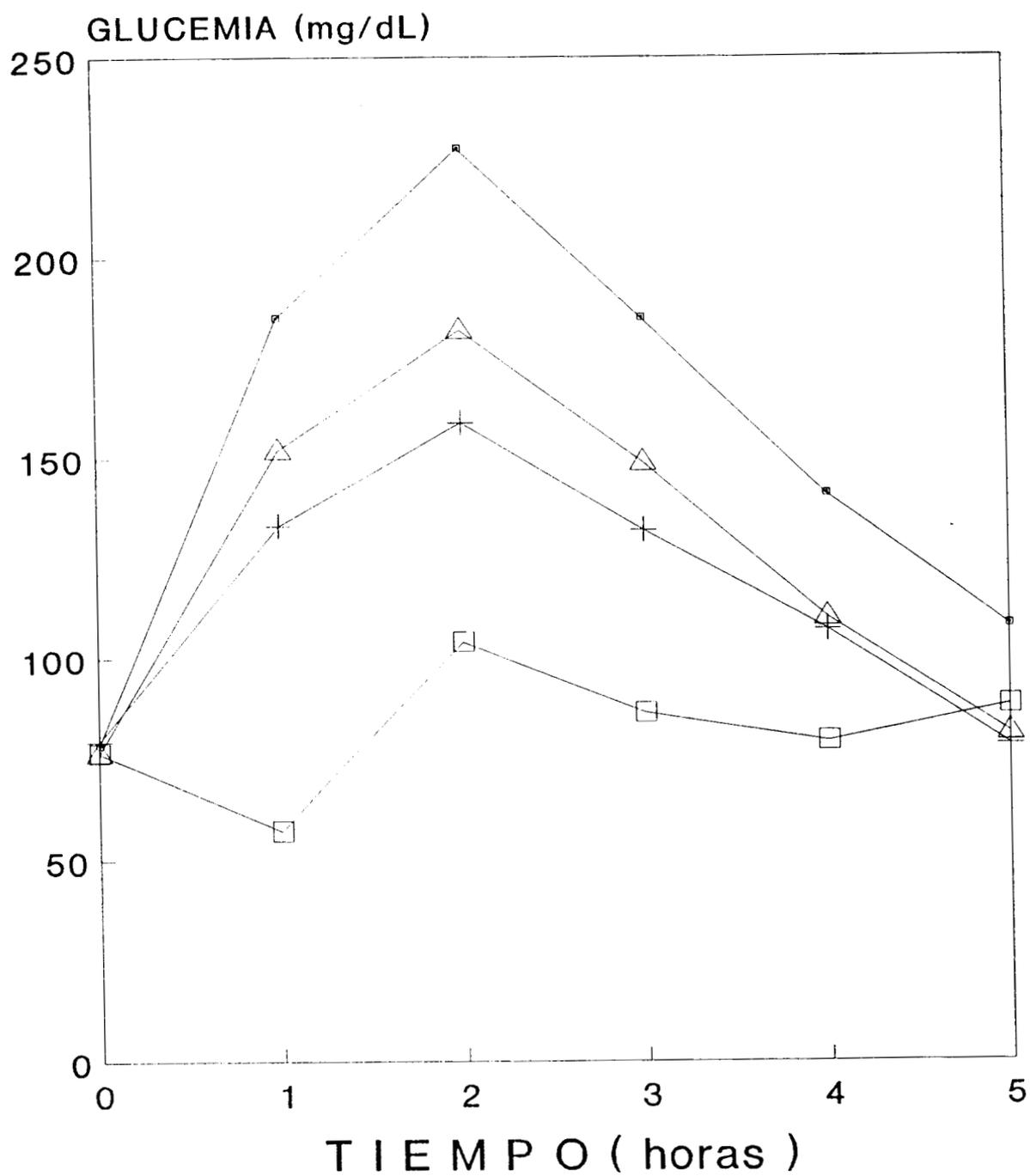


Figura 1. Curvas de tolerancia a la glucosa en conejos con administración previa de agua •, tolbutamida Δ, decocción de *Psacalium peltatum* + e insulina □.

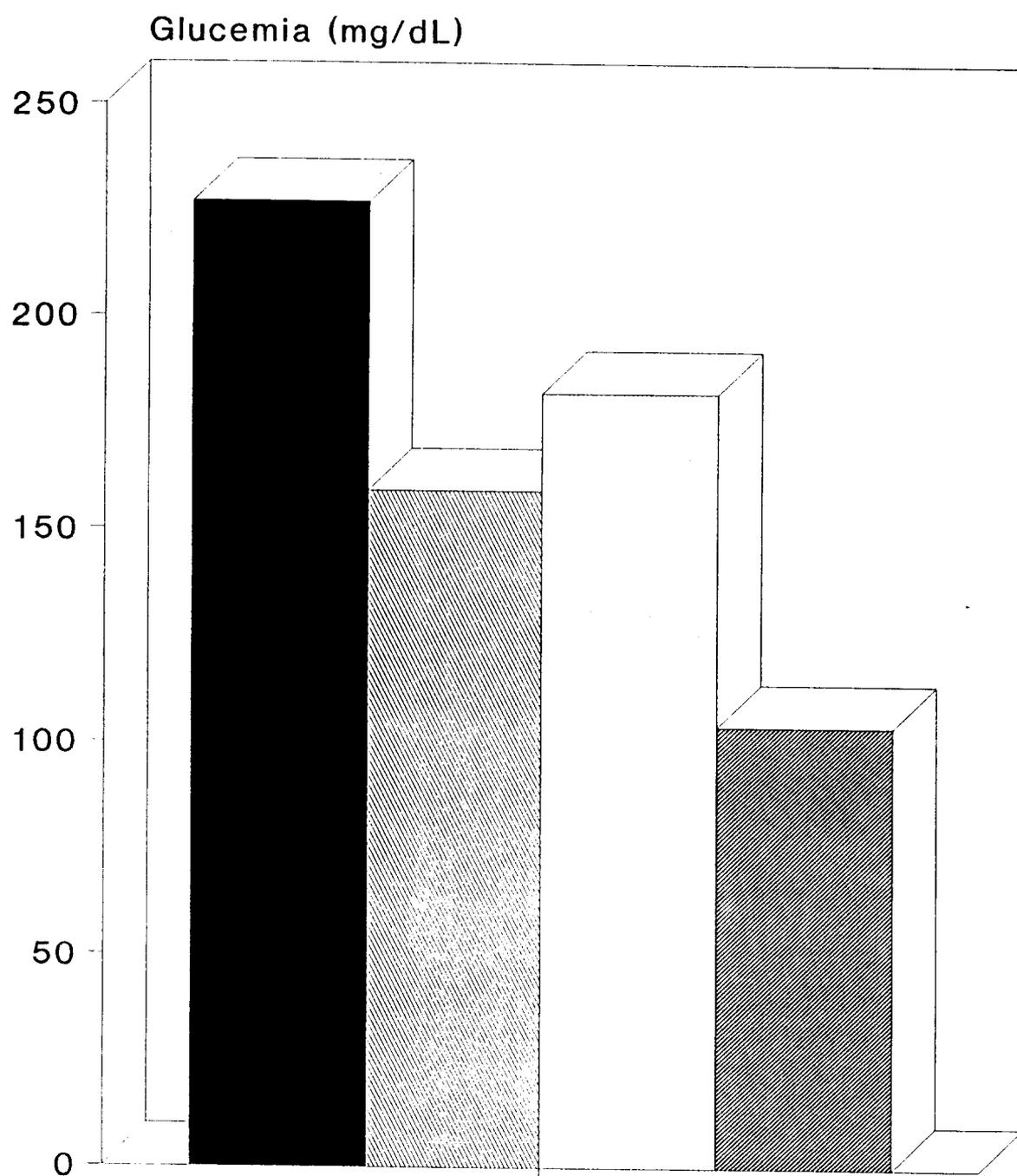


Figura 2. Elevación máxima de la glucemia en conejos sanos con cargas de glucosa después de la administración de agua ■, decocción de *Psacalium peltatum* ▨, tolbutamida e insulina ▩.

La tolbutamida tiene efecto máximo 2 horas después de administrada donde la glucemia es de 182 ± 25 mg/dL (139 ± 14 %). La diferencia respecto al control es de 28 % ($p < 0.05$) y resulta 15 % menor a la producida por la decocción ($p < 0.05$). La insulina produce la máxima inhibición una hora después de administrada y la glucemia es de 57 ± 11 mg/dL, o sea un 25% menor que el valor inicial. Respecto al control con agua en este mismo punto la diferencia es de 163 %. Esto significa que la insulina no solo impide el incremento en la glucemia producido por la 1ª carga de glucosa sino que además disminuye el valor basal y la curva glucémica se conserva significativamente por abajo de los valores del grupo control durante todo el experimento, excepto en el último punto (5 hrs) en el que los valores se traslapan.

VII.1.2 Con diabetes moderada

Los conejos pretratados con aloxana y con valores de glucemia en ayunas entre 150 y 350 mg/dL (210 ± 32 mg/dL) permanecen sin cambio importante al administrarles agua como control (Tabla 2, Fig 3 y 4). La administración de la decocción de *Psacalium peltatum* causa una disminución estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en la glucemia de estos conejos a partir de la 1ª hora de administrada manifestando su acción hipoglucemiante máxima a las 4 horas, cuando la glucemia disminuye a 136 ± 19 mg/dL, o sea al 64.3

TABLA 2. Glucemia de conejos con diabetes moderada después de administración de la decocción de *Psacalium peltatum*.

GLUCEMIA (M ± D.E.) mg/dL

Estudio	inicial	1h	2hs	3hs	4hs	5hs
Agua	215 ± 35	221 ± 35	218 ± 29	221 ± 35	216 ± 33	220 ± 35
Tolbutamida	210 ± 31 NS	197 ± 32	193 ± 27	166 ± 25	155 ± 23	154 ± 24
<i>P.peltatum</i>	211 ± 32 NS	199 ± 25	188 ± 22	152 ± 21	136 ± 19	157 ± 20
Insulina	206 ± 29 NS	164 ± 27	99 ± 16	71 ± 9	56 ± 10	61 ± 9

NS = No significativo respecto al control (agua) $p < 0.05$
(n=18)

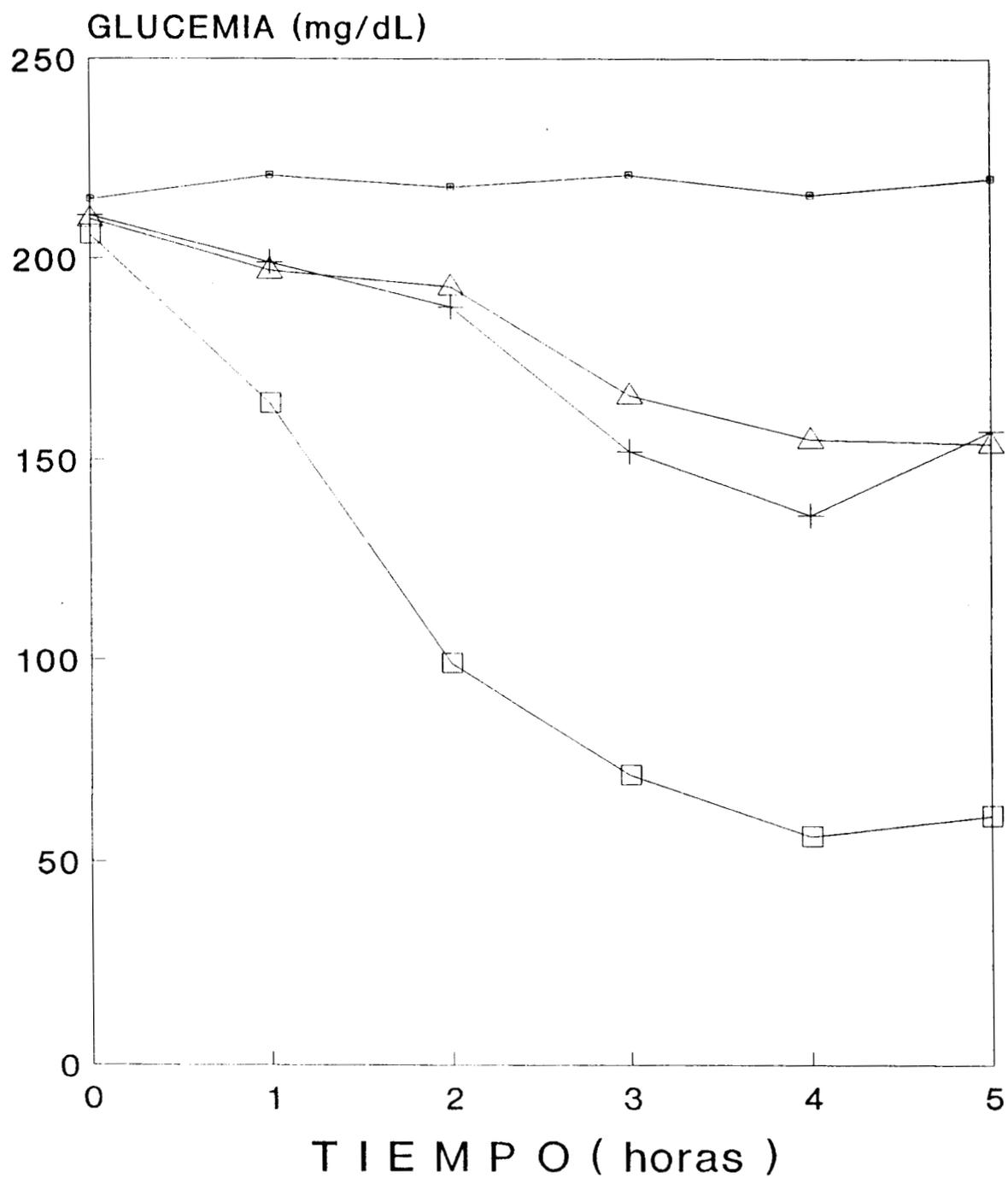


Figura 3. Curvas glucémicas en conejos con diabetes moderada después de la administración de agua •, tolbutamida Δ, decocción de *Psacalium peltatum* +, e insulina ◻.

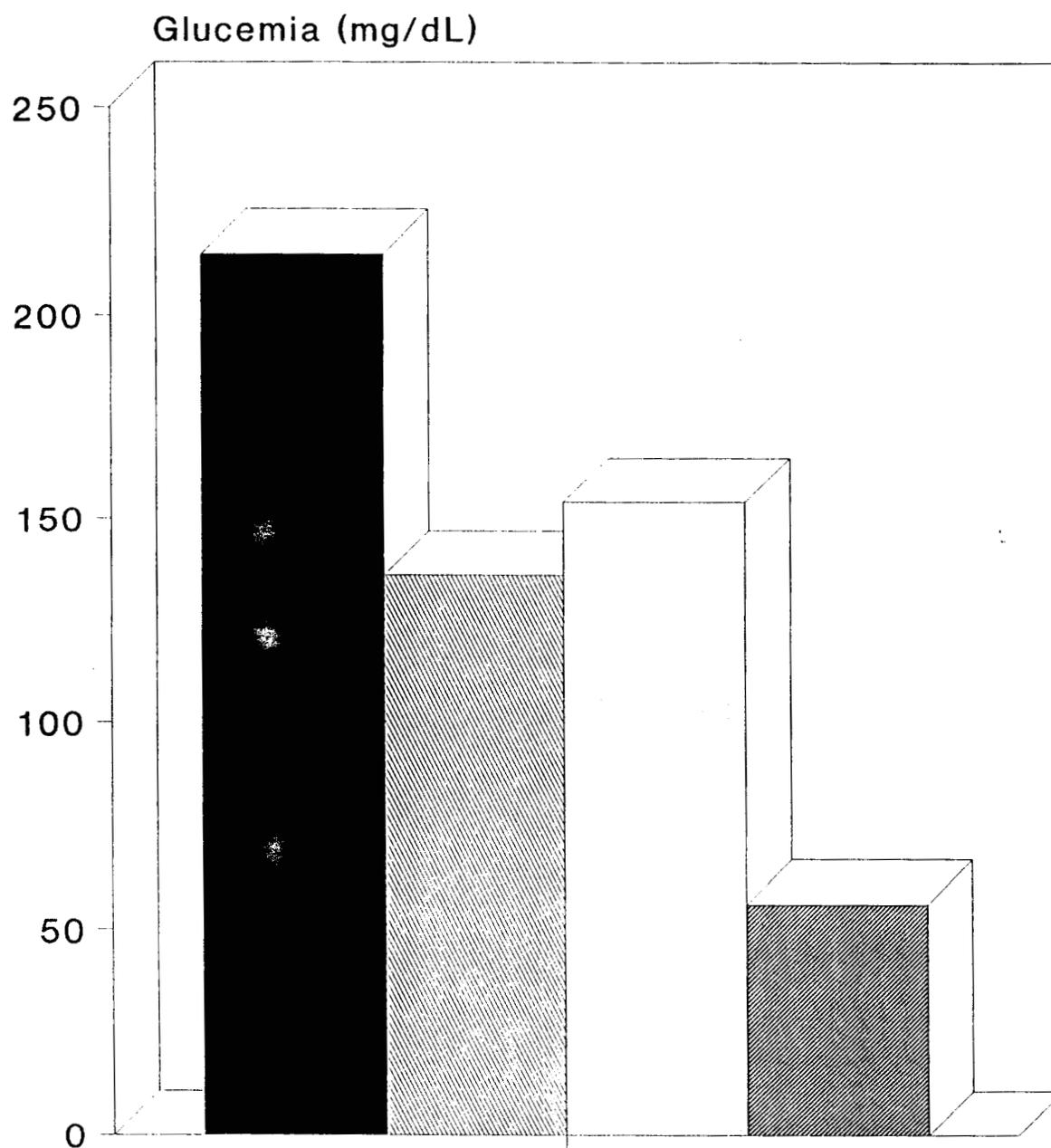


Figura 4. Nivel mínimo de glucemia en conejos con diabetes moderada alcanzado después de la administración de agua ■, decocción de *Psacalium peltatum* ▨, tolbutamida □ e insulina ▩.

% del valor inicial. Para el grupo control la glucemia en este mismo punto (4hrs) fue de 216 ± 36 mg/dL. La tolbutamida tiene efecto hipoglucémico estadísticamente significativo también a partir de las 1^a horas de administrada. Su acción hipoglucemiante máxima la muestra a las 5 horas, cuando la glucemia es de 154 ± 24 mg/dL. La insulina provoca una disminución significativa ($p < 0.05$) en todos los puntos de la curva glucémica.

VII.1.3 Con diabetes severa

En conejos pretratados con aloxana y cuya glucemia en ayunas es mayor de 350 mg/dL (451 ± 49 mg/dL) la administración de la decocción de *Psacalium peltatum*, así como la administración de tolbutamida no modifican la hiperglucemia existente en ayunas, conservándose ésta, sin variaciones significativas ($p < 0.05$) durante las 5 horas del estudio, de la misma forma que en el estudio control con agua (Tabla 3, Fig. 5). En este grupo de conejos diabéticos solamente la insulina logra disminuir la glucemia en forma significativa ($p < 0.05$) en todos los puntos de la curva. Los descensos causados por esta sustancia fueron del 31 %, 52 %, 77 %, 80 % y 78 % a las 1, 2, 3, 4 y 5 horas respectivamente después de administrada.

TABLA 3. Glucemia de conejos con diabetes severa después de la administración de la decocción de *Psacalium peltatum*.

GLUCEMIA (M ± D.E.) mg/dl

Estudio	inicial	1h	2hs	3hs	4hs	5hs
Agua	459 ± 51	463 ± 52	459 ± 43	456 ± 52	453 ± 50	455 ± 50
Tolbutamida	442 ± 49	450 ± 55	453 ± 49	449 ± 43	445 ± 47	448 ± 51
<i>P.peltatum</i>	454 ± 51	467 ± 44	453 ± 53	452 ± 50	450 ± 49	450 ± 49
Insulina	448 ± 47	311 ± 36*	215 ± 22*	102 ± 13*	86 ± 9*	99 ± 10*

Significancia respecto al control (agua) * $p \leq 0.05$
(n=18)

127876

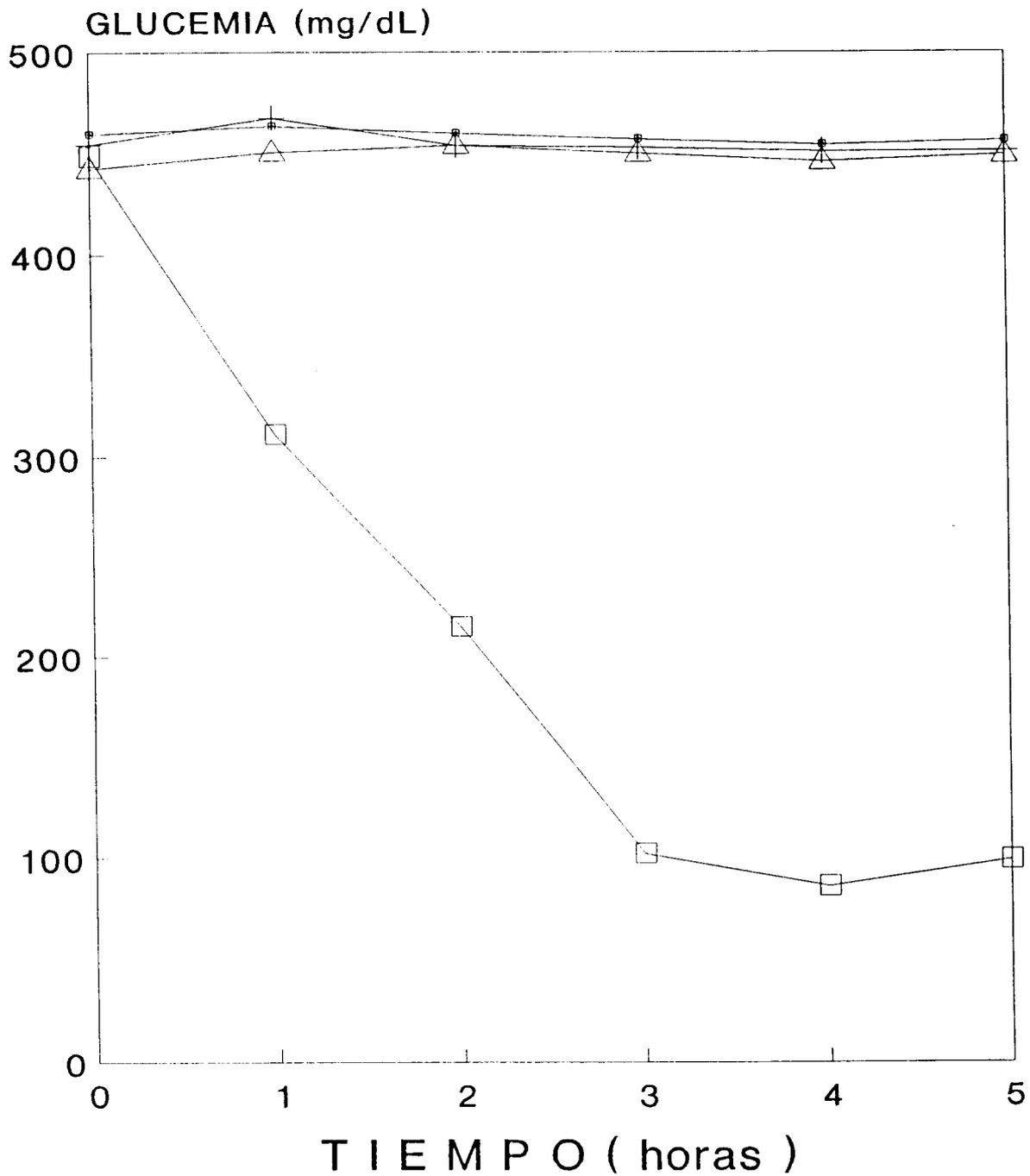


Figura 5. Curvas glucémicas en conejos con diabetes severa después de la administración de agua • , tolbutamida Δ , decocción de *Psacalium peltatum* † e insulina ◻ .

VII.2 En ratas

VIII.2.1 Sanas con glucemia normal

La glucemia en ayunas fue de 68 ± 10 mg/dL (n=16) (Tabla 4, Fig. 6). La administración de la solución salina o de la decocción de *Psacalium peltatum* no produjo cambios importantes en la glucemia. La tolbutamida tiene efecto hipoglucémico que se manifiesta en forma significativa ($p < 0.05$) en todos los puntos estudiados, alcanzando un valor mínimo de la glucemia de 53 ± 10 mg/dL en la segunda hora, lo que representa un descenso del 22% con respecto a la glucemia inicial.

VII.2.2 Sanas con carga de glucosa

La administración de 2 g/kg de glucosa subcutánea hace que la glucemia alcance un valor máximo de 173 ± 19 g/dL (n=7) en la primera hora del experimento, a partir del cual disminuye gradualmente hasta alcanzar valores cercanos al inicial a las 5 horas del estudio (Tabla 5, Fig. 7 y 8).

La administración de la decocción de *Psacalium peltatum* hace que el valor máximo de la glucemia alcanzado sea de 145 ± 15 mg/dL, en tanto que el de la tolbutamida, fue de 131 ± 14 mg/dL en el mismo punto. En ambos casos, la diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0.05$) respecto al control con solución salina.

TABLA 4. Glucemia de ratas sanas después de la administración de la decocción de *Psacalium peltatum*.

Estudio	GLUCEMIA (M ± D.E.) mg/ dL					
	inicial	1h	2hs	3hs	4hs	5hs
SSI (n=16)	68 ± 10	66 ± 7	70 ± 7	72 ± 11	75 ± 7	69 ± 10
<i>P.peltatum</i> (n=7)	67 ± 9	70 ± 12	73 ± 8	71 ± 12	74 ± 8	81 ± 12*
Tolbutamida (n=16)	69 ± 10	55 ± 7*	53 ± 10*	63 ± 11*	61 ± 8*	63 ± 9*

Significancia respecto al control (SSI) * $p \leq 0.05$
 SSI= Solución salina isotónica

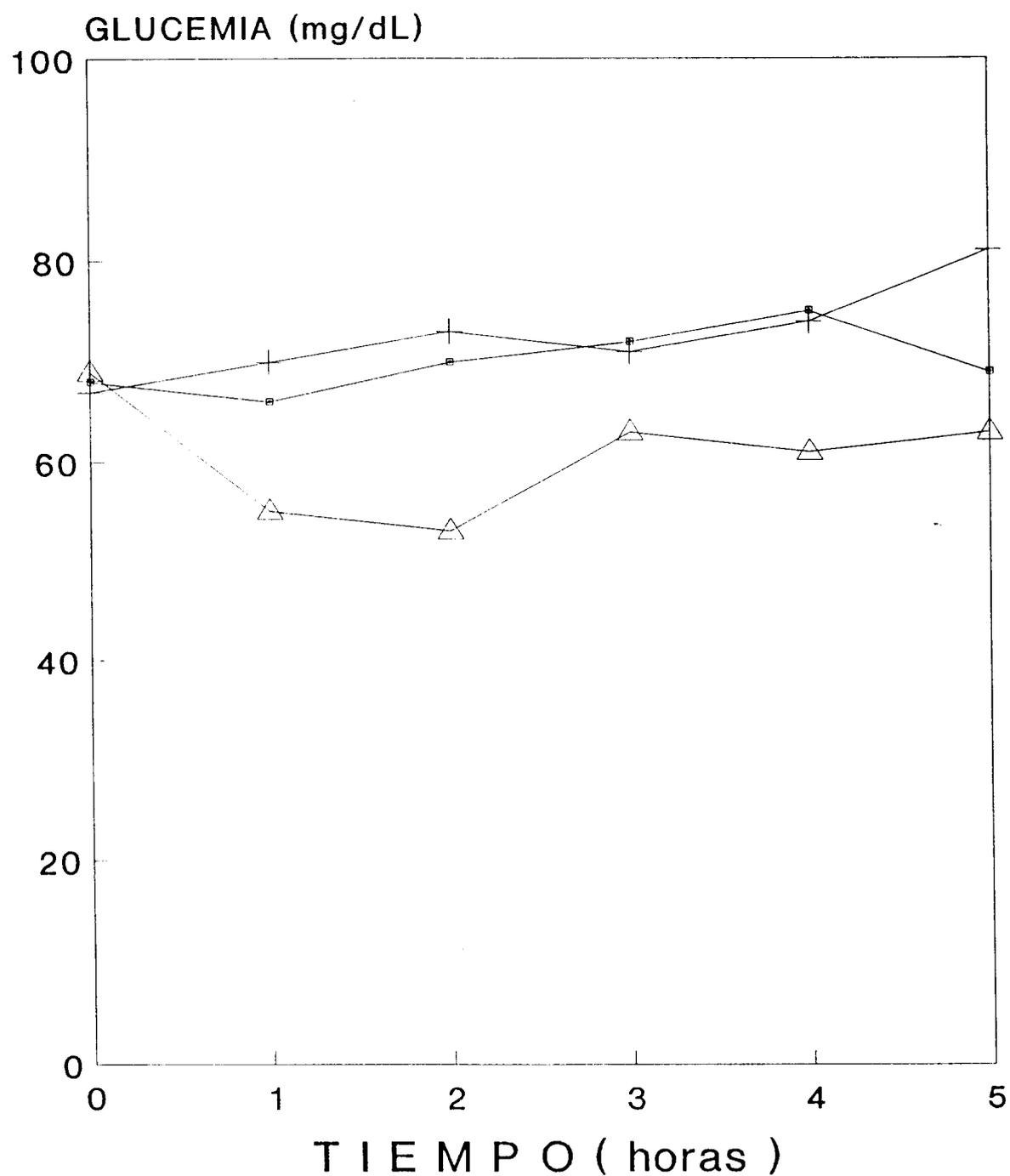


Figura 6. Curvas glucémicas en ratas sanas con administración previa de solución salina isotónica •, tolbutamida Δ y decocción de *Psacalium peltatum* +.

TABLA 5. Glucemia de ratas sanas con carga de glucosa después de administración de la decocción de *Psacalium peltatum*.

GLUCEMIA (M ± D.E.) mg/dL

Estudio	inicial	1h	2hs	3hs	4hs	5hs
SSI	70 ± 10	173 ± 19	165 ± 8	106 ± 29	88 ± 22	80 ± 2
<i>P.peltatum</i>	76 ± 9	145 ± 15*	127 ± 11*	104 ± 17	91 ± 9	76 ± 6
Tolbutamida	66 ± 7	131 ± 14*	129 ± 5*	74 ± 8*	69 ± 5*	69 ± 16

Significancia respecto al control (SSI) * $p \leq 0.05$
 SSI= Solución salina isotónica
 (n=7)

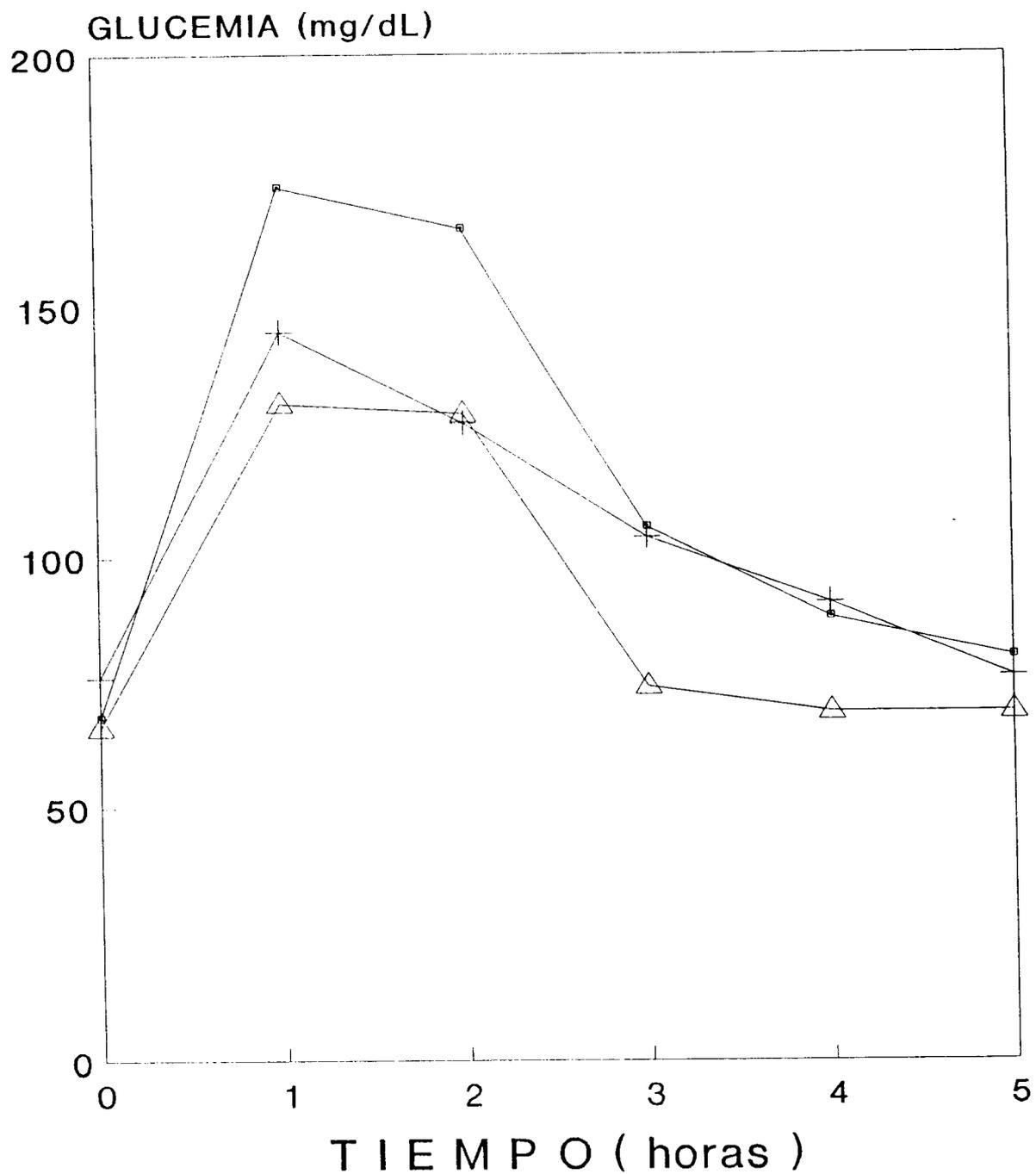


Figura 7. Curvas de tolerancia a la glucosa en ratas con administración previa de solución salina isotónica •, tolbutamida Δ y decocción de *Psacalium peltatum* +.

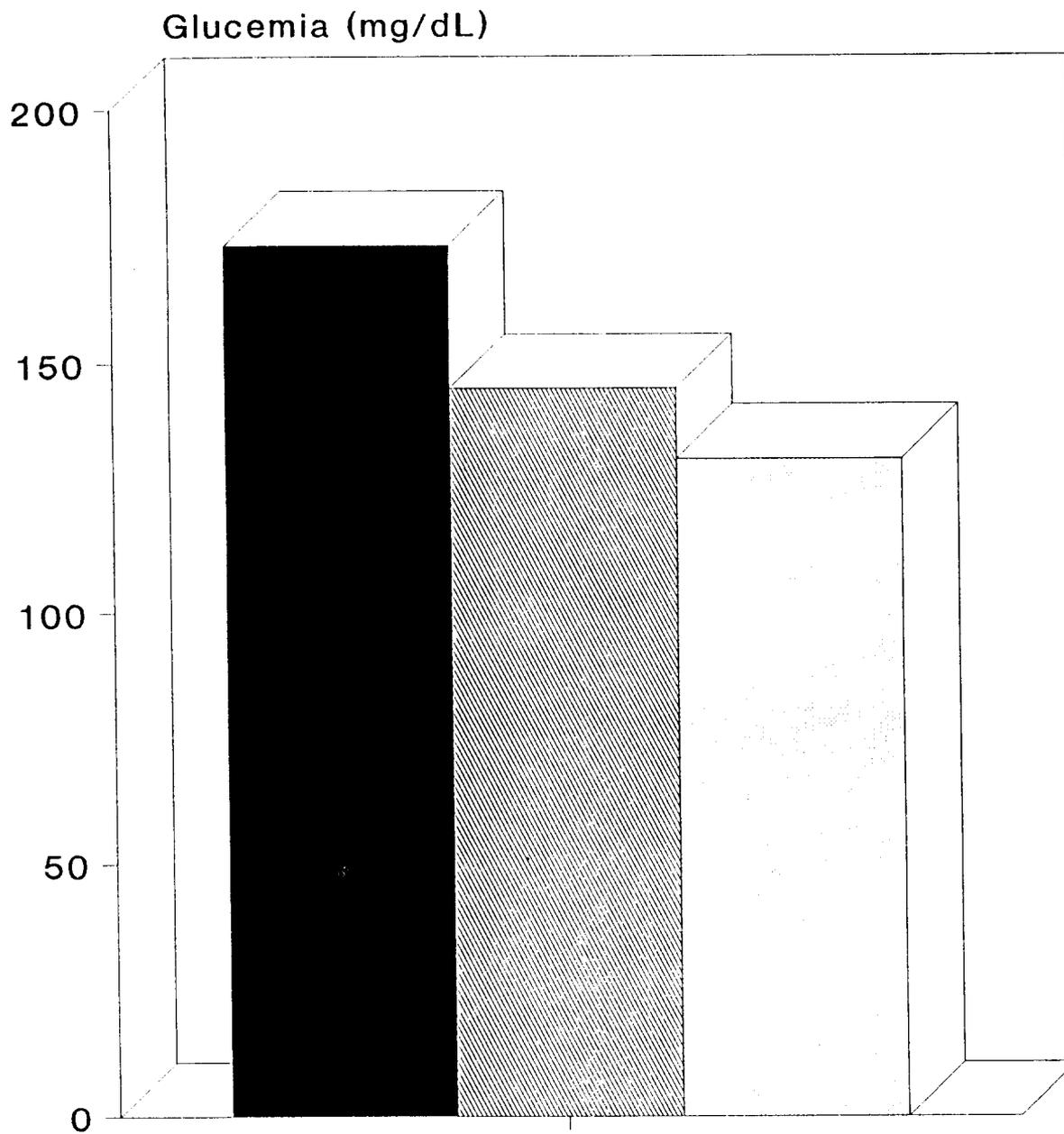


Figura 8. Elevación máxima de la glucemia en ratas sanas con cargas de glucosa después de la administración de agua ■, decocción de *Psacalium peltatum* ▨ y tolbutamida .

VII.2.3 Con diabetes severa

En este grupo, la administración de la decocción de *Psacalium peltatum* logra disminuir en forma significativa ($p < 0.05$) la hiperglucemia existente en ayunas de 382 ± 40 mg/dL durante las 2 primeras horas unicamente mientras que la tolbutamida no produce cambio importante. (Tabla 6, Fig. 9).

VII.2.4 Estudio de los extractos

La administración del extracto de *Psacalium peltatum* obtenido con hexano produce un aumento en la glucemia (Tabla 7, Fig. 10 y 11) estadísticamente significativo en todos los puntos estudiados de la curva de tolerancia a la glucosa respecto al estudio control con solución salina. El extracto obtenido con diclorometano tiene efecto antihiperglucémico y el valor máximo de la glucemia alcanzado fue de 131 ± 49 mg/dL, mientras que en el control con solución salina fue de 173 ± 19 mg/dL, lo que representa una disminución del 24 % ($p < 0.05$). El extracto obtenido con metanol presenta también un efecto hiperglucémico significativo ($p < 0.05$) respecto al control en todos los puntos estudiados de la curva de tolerancia a la glucosa. El extracto obtenido con agua no produce cambios importantes en la glucemia.

VII.2.5 Estudio de las fracciones

TABLA 6. Glucemia de ratas con diabetes severa después de la administración de la decocción de *Psacalium peltatum*.

Estudio	GLUCEMIA (M ± D.E.) mg/dL					
	inicial	1h	2hs	3hs	4hs	5hs
SSI (n=5)	382 ± 40	363 ± 53	393 ± 46	348 ± 31	359 ± 38	344 ± 38
<i>P.peltatum</i> (n=10)	361 ± 32	339 ± 14*	364 ± 14*	379 ± 14*	383 ± 7*	350 ± 22
Tolbutamida (n=4)	316 ± 14*	329 ± 25*	367 ± 28	354 ± 19	370 ± 22	348 ± 16

Significancia respecto al control (SSI) * $p \leq 0.05$
 SSI= Solución salina isotónica

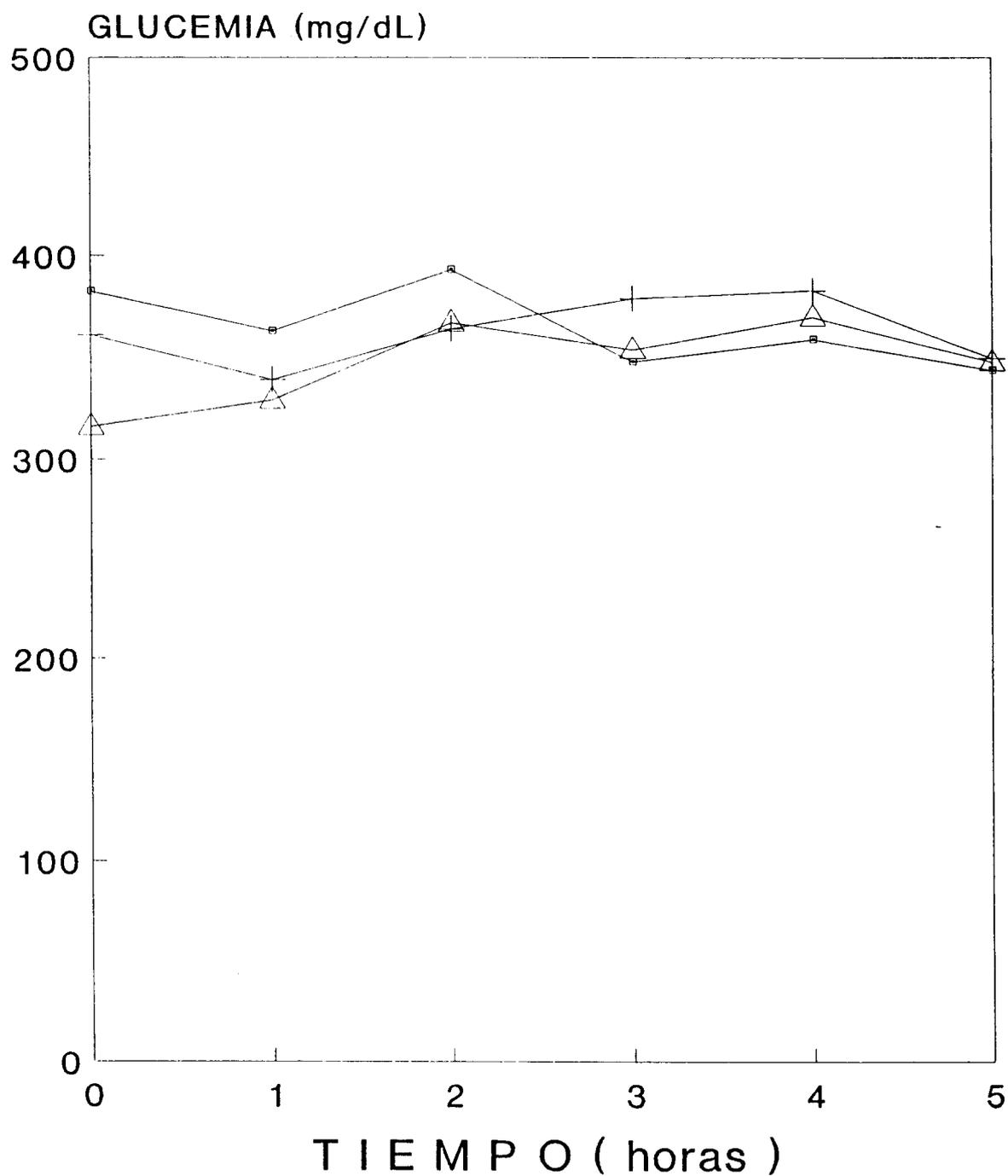


Figura 9. Curvas glucémicas en ratas con diabetes severa después de la administración de solución salina isotónica, tolbutamida Δ y decocción de *Psacalium peltatum* + .

TABLA 7. Glucemia de ratas sanas con carga de glucosa después de la administración de 4 extractos de *Psacalium peltatum*.

GLUCOSA (M ± D.E.) mg/dL

Estudio	inicial	1h	2hs	3hs	4hs	5hs
SSI	68 ± 10	173 ± 19	165 ± 8	106 ± 29	88 ± 22	80 ± 2
Aceite	70 ± 5	184 ± 24	151 ± 9	102 ± 11	91 ± 16	85 ± 20
Extracto 1	69 ± 4	293 ± 62*	377 ± 97*	369 ± 82*	340 ± 49*	224 ± 89*
Extracto 2	73 ± 8	131 ± 49	117 ± 35*	88 ± 16*	80 ± 7*	80 ± 9
Extracto 3	66 ± 11	119 ± 29*	333 ± 59*	386 ± 99*	337 ± 85*	255 ± 97*
Extracto 4	66 ± 7	153 ± 28	168 ± 70	153 ± 55	130 ± 54	123 ± 35*

Significancia respecto al control * $p \leq 0.05$

SSI= Solución salina isotónica

(n=7)

Extracto 1 Obtenido con Hexano

Extracto 2 Obtenido con Diclorometano

Extracto 3 Obtenido con Metanol

Extracto 4 Obtenido con Agua

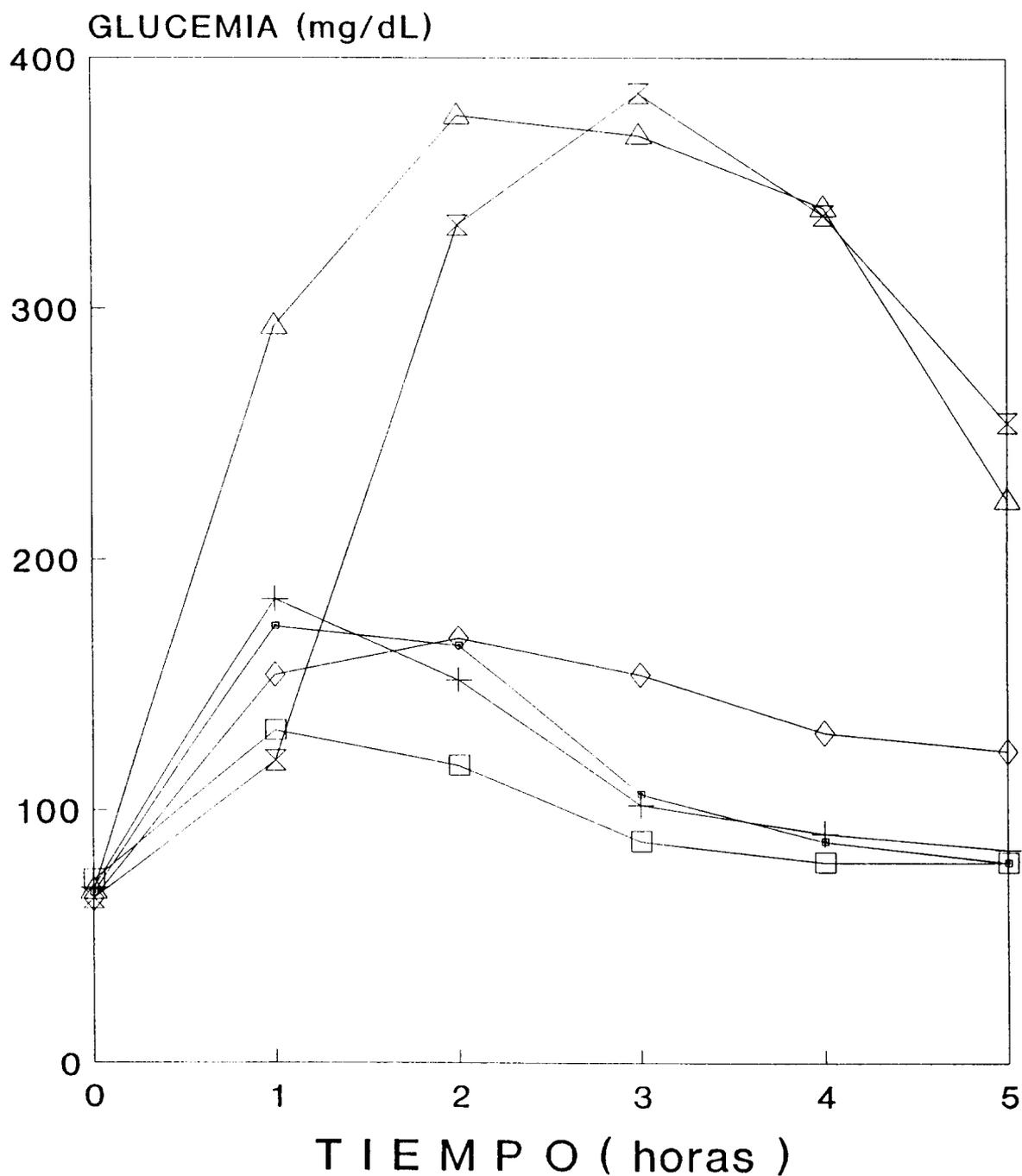


Figura 10. Curvas de tolerancia a la glucosa en ratas sanas con administración previa de solución salina isotónica •, aceite vegetal +, y de los extractos de *Psacalium peltatum* obtenidos con hexano Δ, diclorometano ◻, metanol ⊗ y agua ◊.

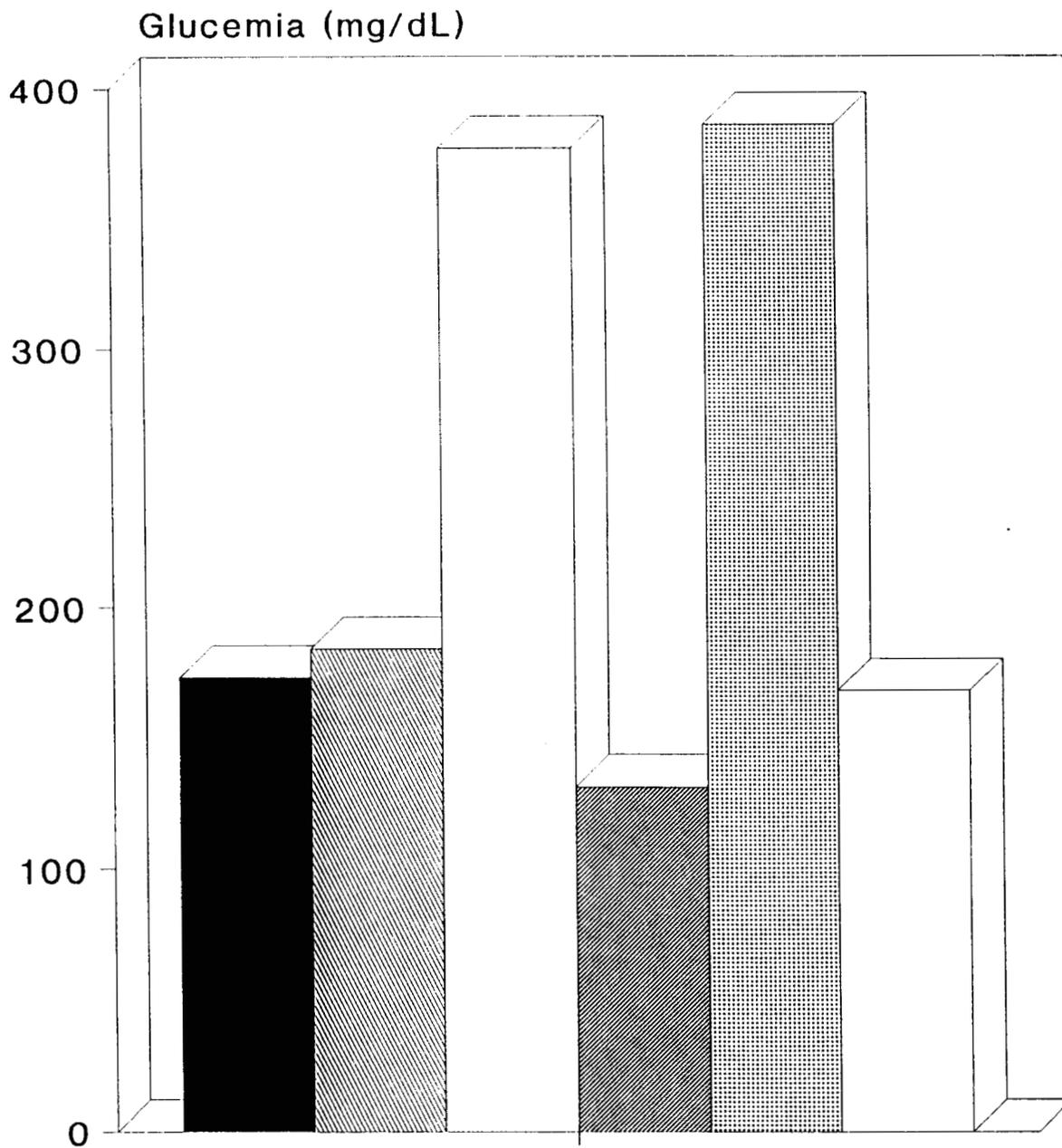


Figura 11. Elevación máxima de la glucemia en ratas sanas con cargas de glucosa después de la administración de solución salina isotónica ■, aceite vegetal ▨ y de los extractos del *Psacalium peltatum* obtenidos con hexano □, diclorometano ▩, metanol ▤ y agua .

127876

La administración de la fracción menos polar del extracto de diclorometano de *Psacalium peltatum* obtenido con diclorometano mostró tener efecto antihiper glucémico. Este se manifiesta en las primeras dos horas de la curva de tolerancia a la glucosa y es estadísticamente significativo ($p < 0.05$) respecto al control con aceite (Tabla 8, Fig. 12 y 13). La administración de las otras dos fracciones no produce disminución significativas ($p < 0.05$) en la glucemia.

VII.2.6 Estudio de los alcaloides

La administración de alcaloides del extracto de *Psacalium peltatum* obtenido con diclorometano produce efecto hiper glucémico (tabla 9, Fig. 14). Una hora después de administrarlos la glucemia alcanza el valor máximo de $246 + 49$ mg/dL y permanece por encima del grupo control durante las 5 horas del experimento ($p < 0.05$).

El estudio de ^1H RMN de los alcaloides del extracto obtenido con diclorometano de la raíz de *Psacalium peltatum* dió por resultado un espectro (Fig. 15) cuya complejidad hace difícil la identificación de alcaloides individuales como los que ya se han encontrado en plantas similares (Fig. 16 y 17 cuadro 11) a pesar de ello se distinguen señales características de derivados pirrolizidínicos como son las señales en 6.18 ppm que corresponden al hidrógeno vinílico en la posición 2 : la señal en 5.55 ppm corresponde a un hidrógeno de la posición 9 y el otro doble se encuentra

Tabla 8. Glucemia de ratas sanas con carga de glucosa después de la administración de 3 fracciones del extracto de *Psacalium peltatum* obtenido en diclorometano.

GLUCEMIA (M ± D.E.) mg/dL

Grupo	inicial	1h	2hs	3hs	4hs	5hs
Control	70 ± 5	184 ± 24	151 ± 9	102 ± 11	91 ± 16	85 ± 20
Fracción 1	74 ± 5	149 ± 38*	140 ± 40	110 ± 28	89 ± 35	77 ± 12
Fracción 2	76 ± 6	191 ± 23	151 ± 11	138 ± 25*	98 ± 27	79 ± 12
Fracción 3	72 ± 5	223 ± 44	171 ± 32	142 ± 34*	131 ± 29*	99 ± 9*

Significancia respecto al control * p ≤ 0.05 (n=7)

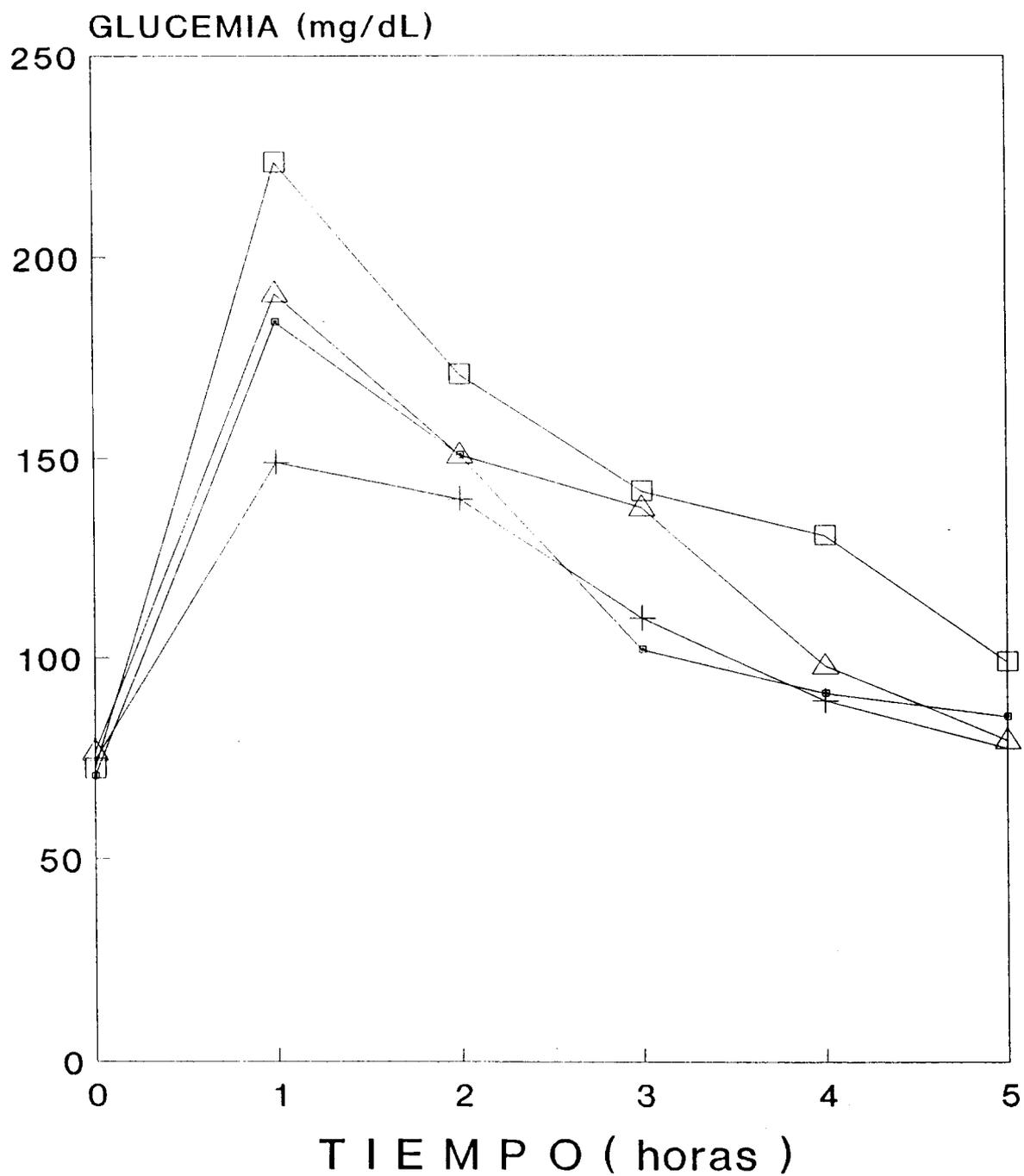


Figura 12. Curvas de tolerancia a la glucosa en ratas sanas con administración previa de aceite vegetal • y de las fracciones 1 ×, 2 Δ y 3 ◻ del extracto de *Psacalium peltatum* obtenido con diclorometano.

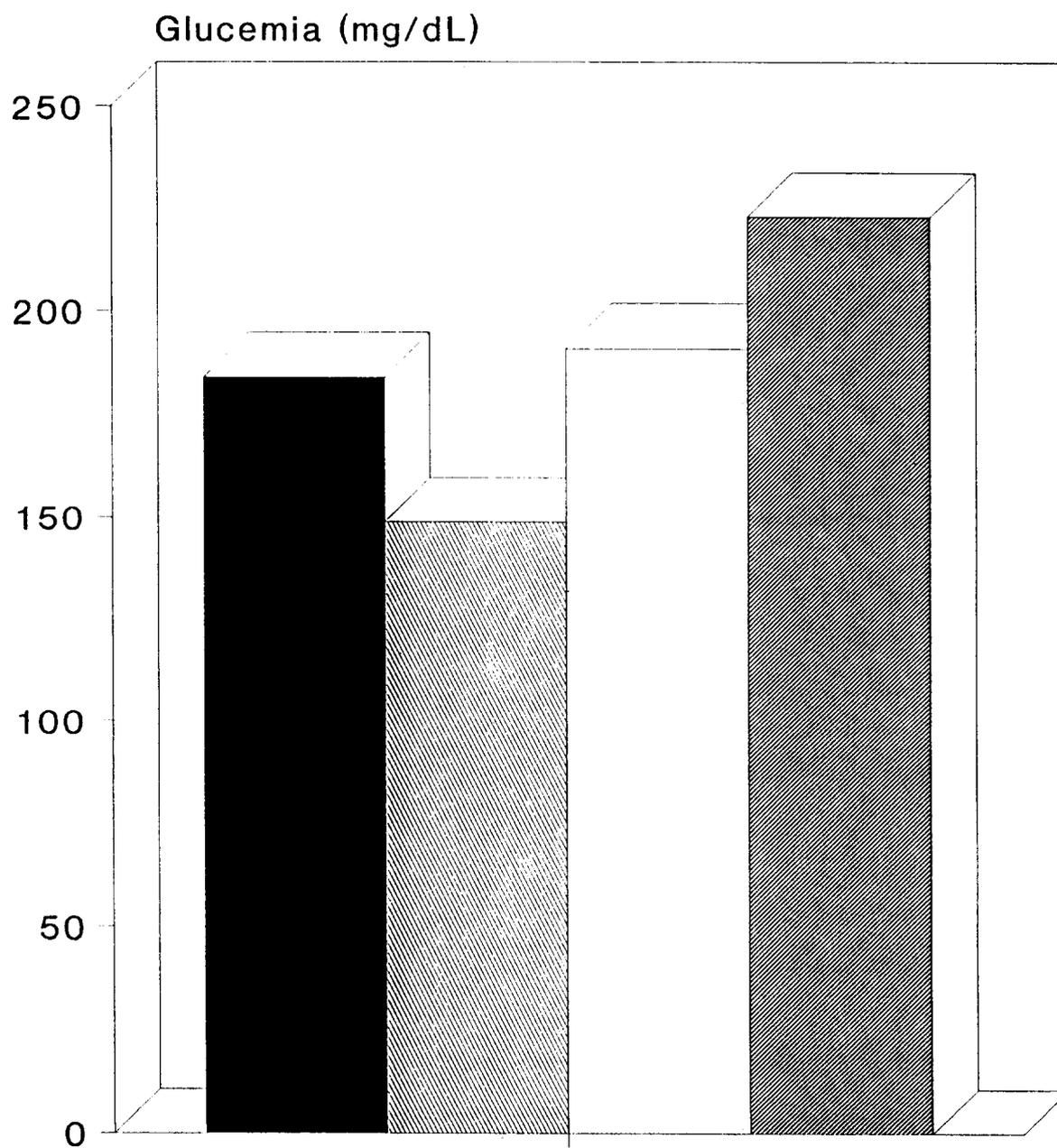


Figura 13. Elevación máxima de la glucemia en ratas sanas con cargas de glucosa con administración previa de aceite vegetal ■ y de las fracciones 1 ▨, 2 ▩ y 3 ▧ del extracto de *Psacalium peltatum* obtenido con diclorometano.

TABLA 9. Glucemia de ratas sanas con carga de glucosa después de la administración de la decocción y de los alcaloides del extracto de *Psacalium peltatum* obtenido con diclorometano.

GLUCEMIA (M ± D.E.) mg/dL

Estudio	inicial	1h	2hs	3hs	4hs	5hs
Aceite	70 ± 5	184 ± 24	151 ± 9	102 ± 11	91 ± 16	85 ± 20
<i>P.peltatum</i>	76 ± 9	145 ± 15*	127 ± 11*	104 ± 17	91 ± 9	76 ± 6
Alcaloides	78 ± 9	246 ± 49*	233 ± 38*	152 ± 31*	129 ± 21*	110 ± 8*

Significancia respecto al control * p ≤ 0.05
(n=7)

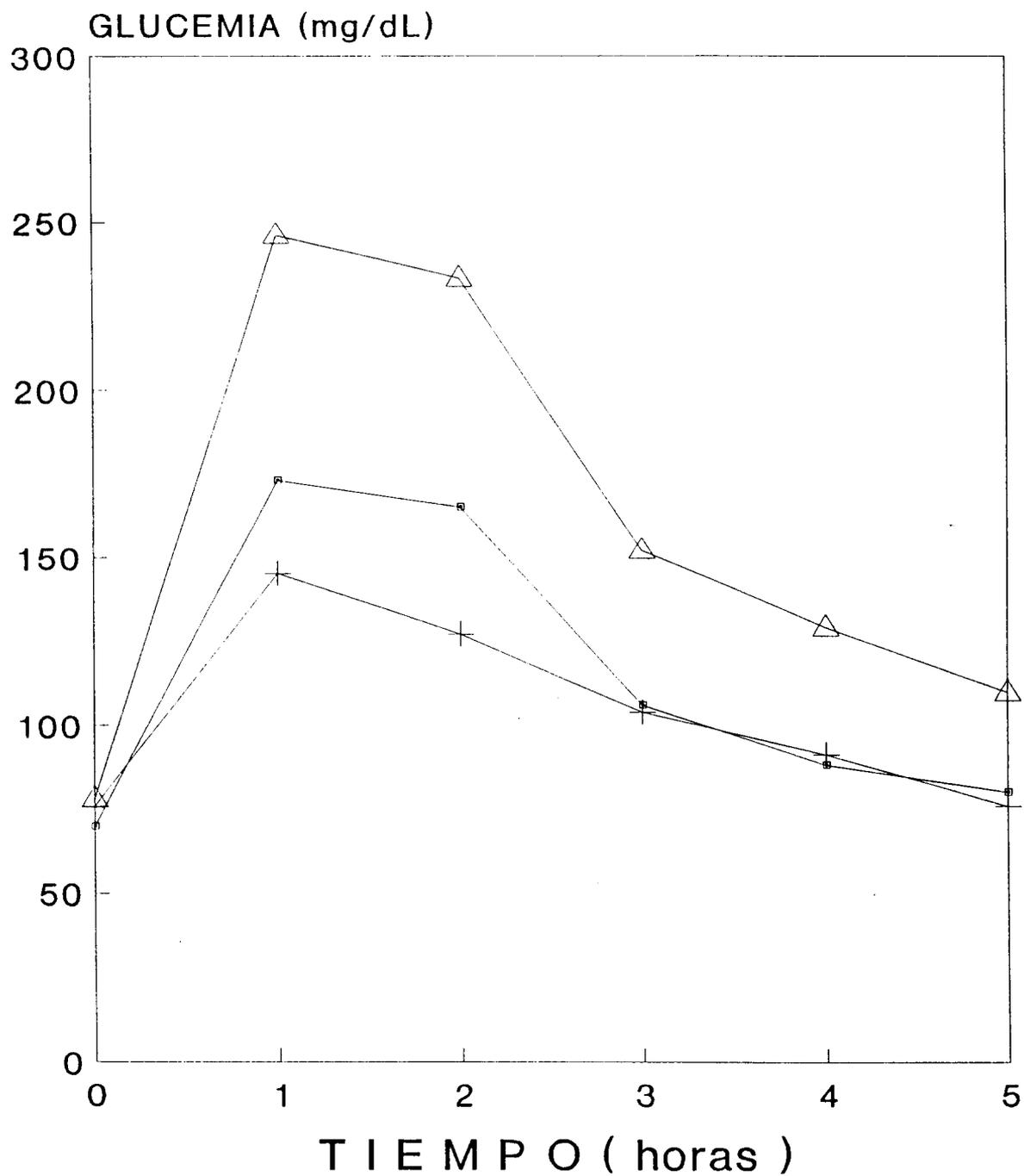
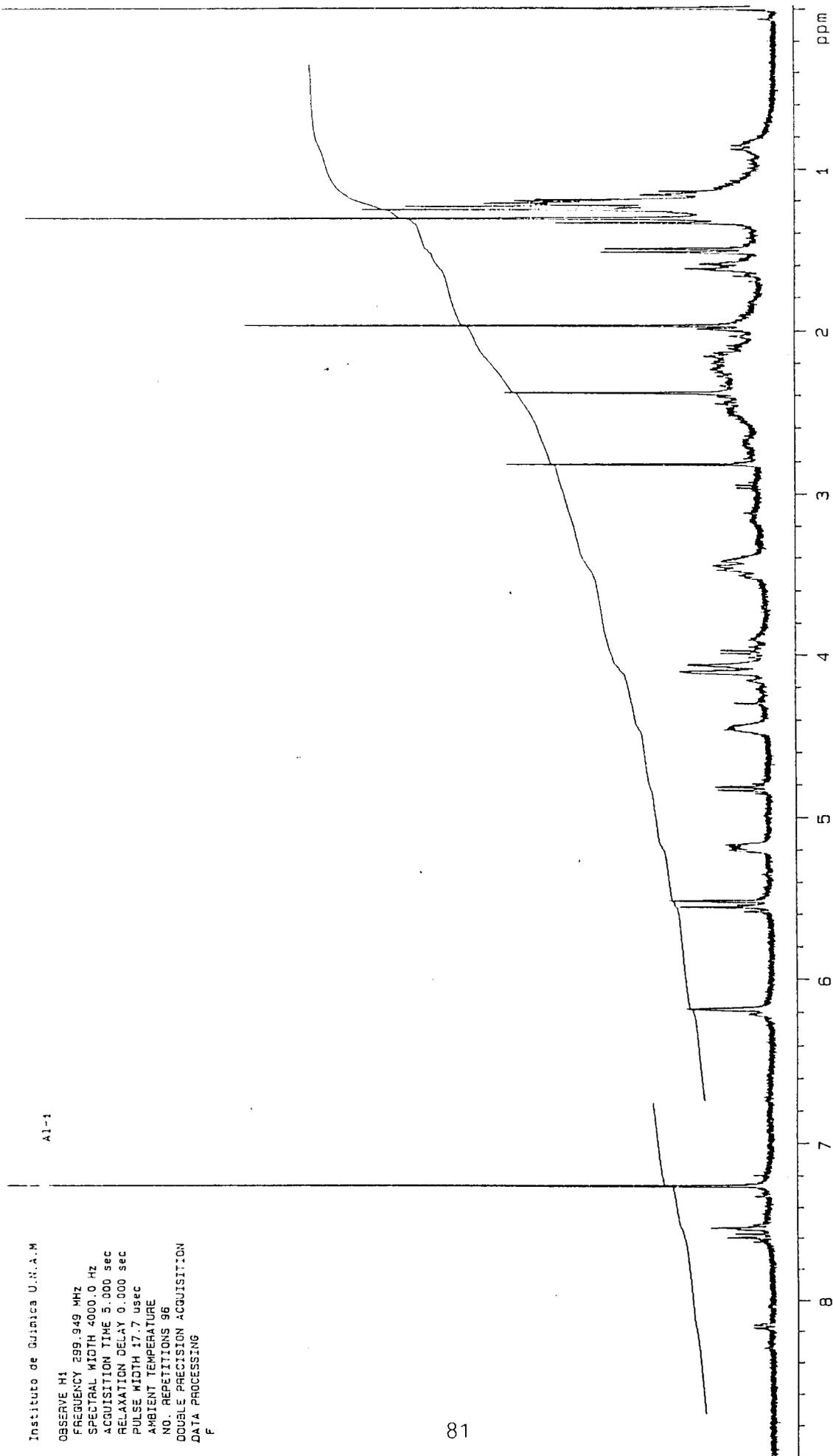


Figura 14. Curvas de tolerancia a la glucosa en ratas sanas después de la administración de la decocción de *Psacalium peltatum* + de los alcaloides del extracto obtenido con diclorometano Δ y del control con aceite vegetal . .

Instituto de Guimica U.N.A.M
OBSERVE H1
FREQUENCY 299.949 MHz
SPECTRAL WIDTH 4000.0 Hz
ACQUISITION TIME 5.000 sec
RELAXATION DELAY 0.000 sec
PULSE WIDTH 17.7 usec
AMBIENT TEMPERATURE
NO. REPEATITIONS 96
DOUBLE PRECISION ACQUISITION
DATA PROCESSING
F

A1-1



81

Figura 15. Espectro de ^1H -RMN de una mezcla de alcaloides nirrolizidina de *Psacalium peltatum*.

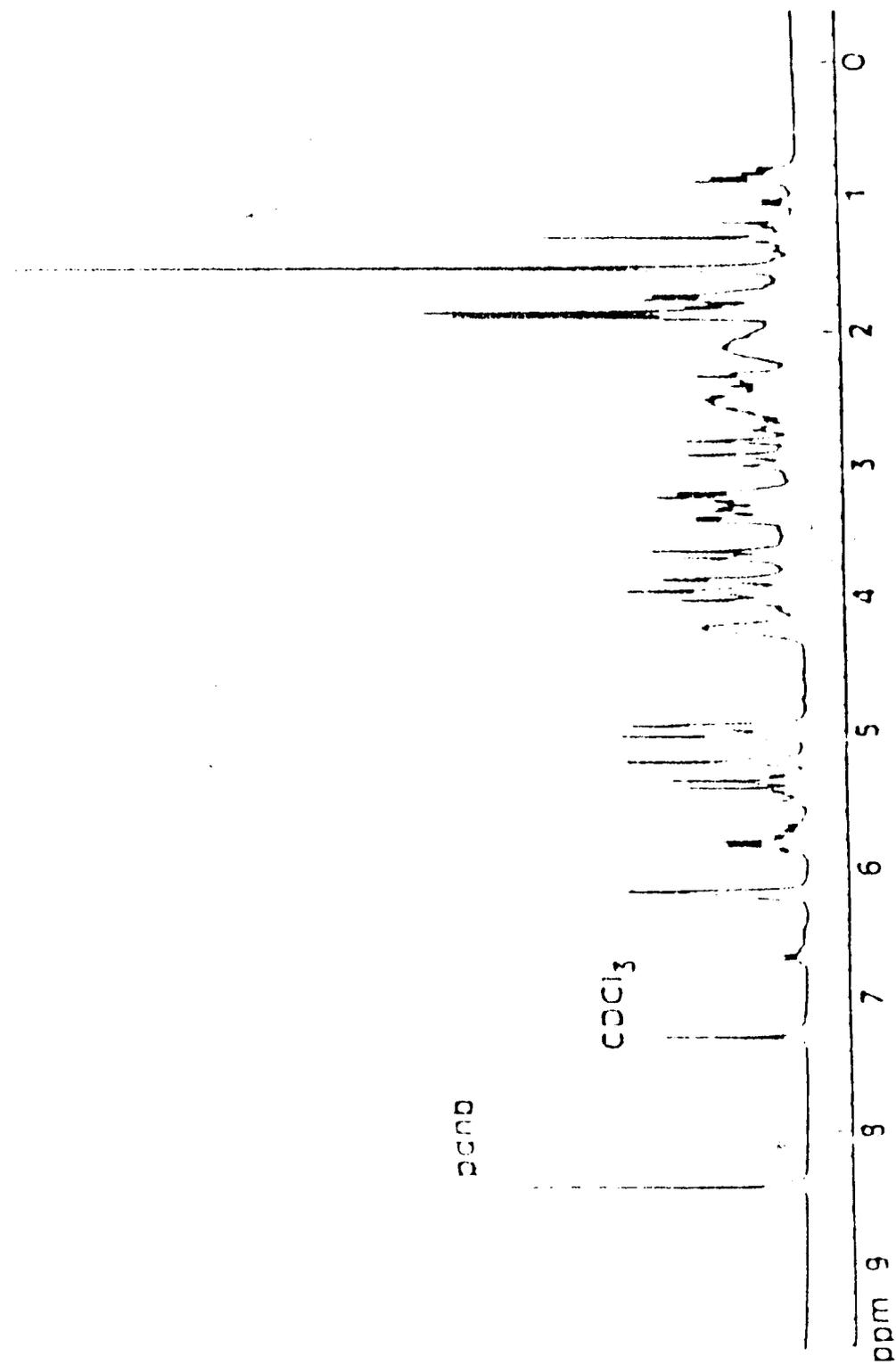


Figura 16. Espectro de ^1H -RMN de una mezcla de alcaloides pirrolizidina de *Senecio vulgaris* (Pieters y col. 1985).

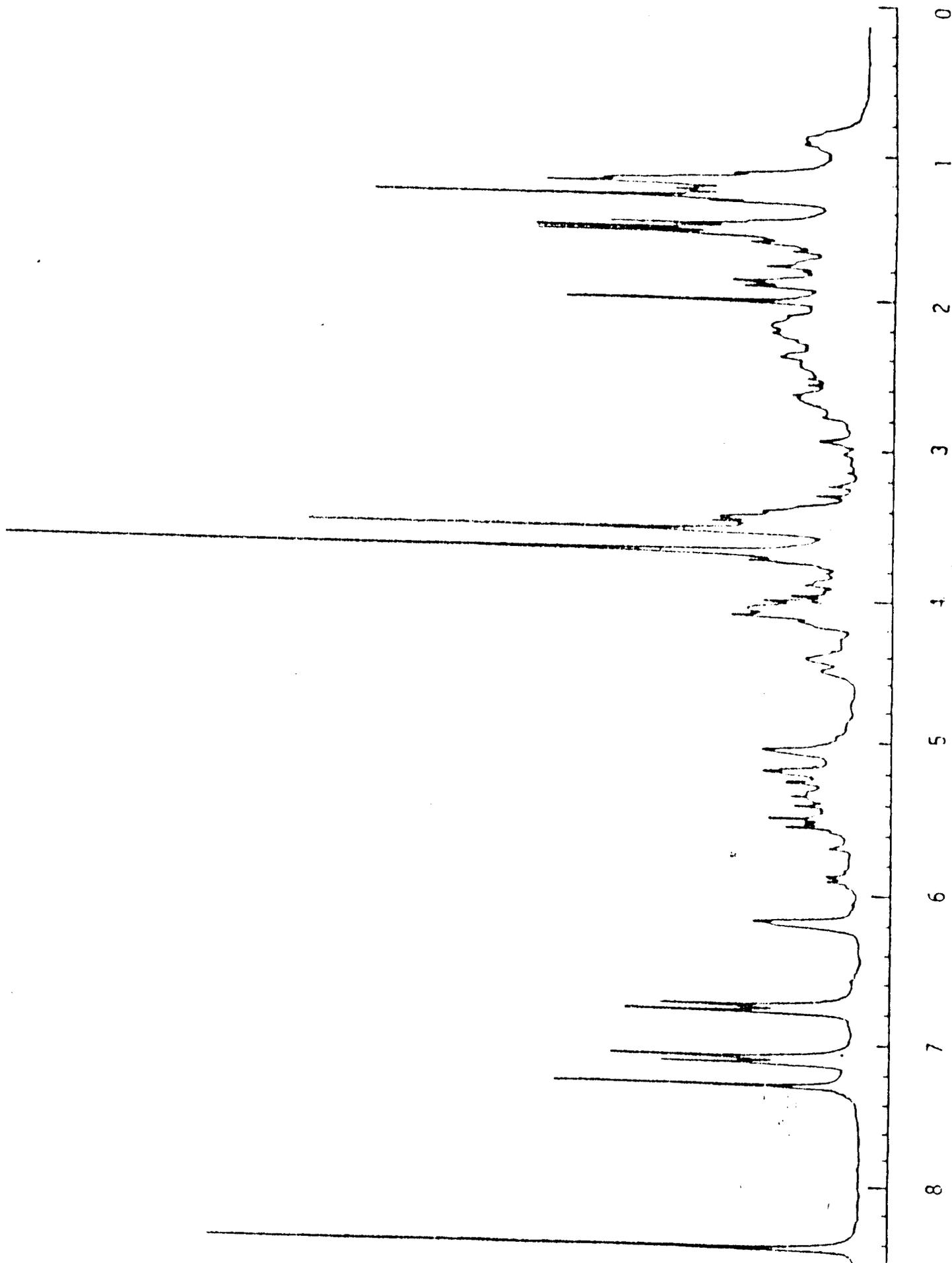
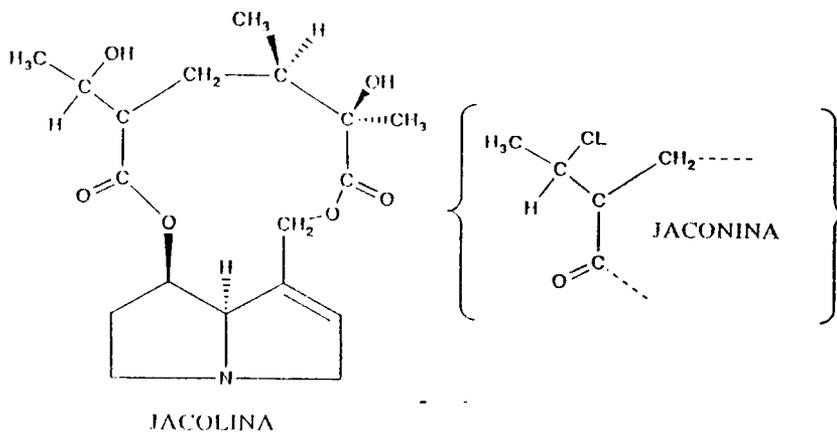
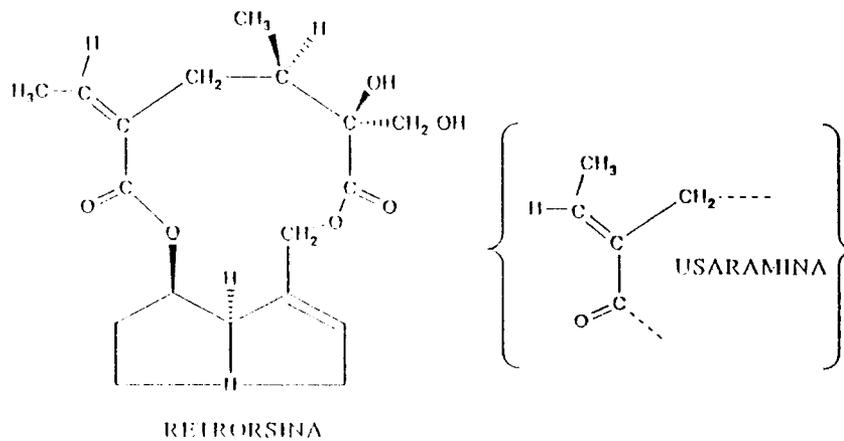
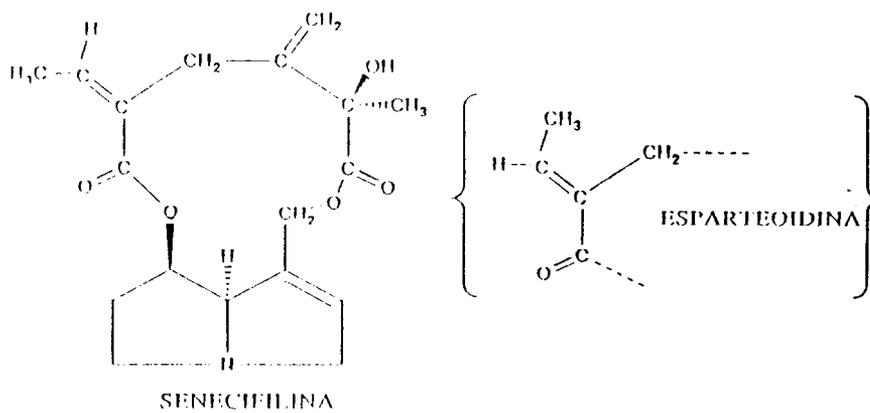
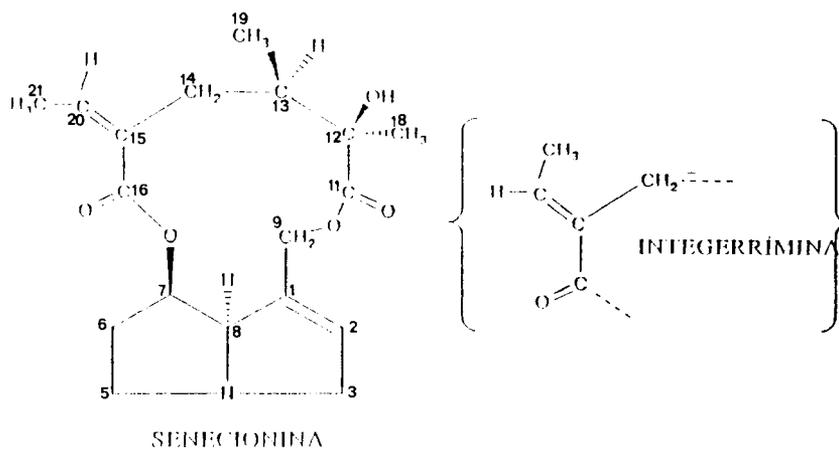


Figura 17. Espectro de ^1H -RMN de una mezcla de alcaloides pirrolizidina de *Senecio jacobaea* (Peters y col. 1989).

Cuadro 11. Estructura química de algunos alcaloides tipo pirrolizidina y sus estereoisómeros de *Senecio sp.*.



en 4.01. Otras señales características se observan en 4.4 (H-8) con un ligero desplazamiento de la posición reportada en la literatura debido probablemente a efectos de protonación del nitrógeno: el metilo de H-18 es claramente visible por una señal única en campo alto 1.3 ppm. Otra señal característica de jaconina (cuadro 11) es la señal doble observada en 1.5 ppm, los hidrógenos de los metilenos vecinos al nitrógeno producen una señal ancha en campo alto 3.4 ppm.

IX DISCUSION

Los niveles de la glucosa sanguínea en ayunas de los animales sanos usados en la presente investigación son parecidos a los reportados por otros investigadores (81, 82) para estas cepas de animales y también son muy parecidos a los valores reportados para el humano adulto en ayunas (83). Esta similitud de la glucemia en ayunas nos permite utilizar a los conejos Nueva Zelanda y a las ratas Wistar como modelos de investigación de sustancias con probables propiedades hipoglucemiantes como son las plantas utilizadas empíricamente por la población mexicana en el control de la diabetes mellitus, entre las cuales encontramos al *Psacalium peltatum*.

La preparación y dosificación de la decocción de la raíz de *Psacalium peltatum* durante los estudios realizados en la presente investigación se hicieron tomando en cuenta la información etnobotánica existente al respecto. La población acostumbra hervir entre 120 y 150 g de raíz seca de *Psacalium peltatum* en un litro de agua a fuego lento durante 10 minutos, dejar enfriar a temperatura ambiente el recipiente y tomar un vaso o tasa de 200-250 mL (aproximadamente 4 mL/kg de peso corporal) del sobrenadante tres veces al día, generalmente antes de los alimentos.

En este trabajo se utilizaron 133 g de raíz de la planta en un litro de agua, hirviéndola también durante 10 minutos a fuego lento y dejándola enfriar a temperatura ambiente. El sobrenadante se administró a los animales en estudio a una

dosis de 4 mL/kg de peso corporal. La investigación de la glucemia la realizamos durante las 5 horas siguientes, tiempo aproximado al existente entre las tomas de alimentos por la población mexicana.

Las cargas de glucosa administradas a los animales sanos permitieron inducir hiperglucemia en éstos durante las 5 horas de los estudios e investigar el efecto antihiperglucémico que la población en forma empírica atribuye a la decocción de la raíz de *Psacalium peltatum*.

El uso de tolbutamida (hipoglucemiante oral más empleado en el control de la diabetes mellitus no insulino dependiente) permitió validar la efectividad del modelo de investigación. Dosis equivalentes a las terapéuticas para el humano redujeron en forma significativa la hiperglucemia de los animales en todos los puntos estudiados de la curva de tolerancia a la glucosa.

La administración de la decocción de la raíz de *Psacalium peltatum* a los conejos les produjo reducciones de la hiperglucemia más importantes que los causados por la tolbutamida en las primeras 4 horas de la curva de tolerancia a la glucosa. [En las ratas la disminución de la hiperglucemia causada por la administración de la planta fue muy parecida a la causada por la tolbutamida.]

Los resultados obtenidos de la investigación de los conejos sanos con hiperglucemia temporal inducida mediante la administración de cargas parenterales de glucosa no se diferencian estadísticamente de los reportados por Román y

col. (84) y nos muestran su reproducibilidad. Los resultados positivos obtenidos en las ratas muestran la factibilidad de del uso de esta especie animal en el estudio de sustancias hipoglucemiantes, necesitando por su peso corporal de cantidades aproximadamente 10 veces menores que en los conejos, lo cual es muy importante en el estudio de extractos y fracciones de plantas, cuyas decocciones han mostrado tener actividad hipoglucemiante, como en el caso de *Psacalium peltatum*.

El uso de animales sanos con hiperglucemia temporal inducida mediante la administración parenteral de glucosa permite la investigación de sustancias hipoglucemiantes descartando de entre los mecanismos de acción farmacológica debidos a la disminución en la absorción intestinal de glucosa. Esto permite comenzar a dilucidar sobre los probables mecanismos de acción hipoglucemiante de la decocción de la raíz del *Psacalium peltatum*.

La administración intravenosa de aloxana a conejos por el método de Duffy permite causar el daño selectivo e irreversible de parte o de todas las células beta de los islotes pancreáticos con el subsiguiente desarrollo de diabetes mellitus moderada o severa respectivamente, sin daño de la parte exocrina del páncreas, como sucede en la diabetes experimental inducida quirúrgicamente (85).

La diabetes mellitus moderada de estos conejos simula a la diabetes mellitus tipo II o no insulino dependiente del humano como lo demuestran los niveles de la glucosa sanguínea

(150 a 350 mg/dL), glucosuria, ausencia de acetona en la orina y la disminución de la hiperglucemia causada por la tolbutamida. Este fármaco necesita de la presencia de células beta pancreáticas intactas, capaces de secretar insulina para ejercer su acción hipoglucemiante (86).

[La diabetes mellitus severa en los conejos usados en esta investigación simula a la diabetes mellitus tipo I o insulino dependiente del humano. Esto nos lo muestran los niveles elevados de la glucemia (superiores a 350 mg/dL), glucosuria, presencia de cuerpos cetónicos en orina, pérdida notoria de peso (aproximadamente 100 gramos a la semana), polidipsia y poliuria intensas, opacidad del pelo y la ineffectividad de la tolbutamida para disminuir la hiperglucemia.]

El estudio realizado en ratas anestesiadas permitió diferenciar el efecto hipoglucemiante del sedante o analgésico.

[La decocción de la raíz de *Psacalium peltatum* al igual que la tolbutamida fue eficaz en la disminución de la glucemia de los conejos con diabetes moderada e ineficaz en los animales (conejos y ratas) con diabetes severa. Al igual que el hipoglucemiante oral citado la sustancia o sustancias responsables de la acción hipoglucemiante del *Psacalium peltatum* necesitan de la presencia de insulina endógena, actuando probablemente mediante el aumento en la secreción y/o efectividad de esta hormona por sensibilización de los receptores, disminución de la velocidad de degradación etc.]

En los conejos con diabetes severa no hay células beta pancreáticas intactas capaces de secretar insulina y no hay efecto hipoglucémico del *Psacalium peltatum* ni de la tolbutamida. En estos animales solo la insulina tuvo acción hipoglucemiante.

[El análisis de los resultados de la investigación de la acción hipoglucemiante de la decocción de la raíz de *Psacalium peltatum* en animales sanos con hiperglucemia temporal y en animales diabéticos nos permite pensar que el uso tradicional de esta planta está fundamentado únicamente en el control de la diabetes mellitus tipo II o no insulino dependiente, mientras que en la diabetes mellitus tipo I es ineficaz y se recomienda a los enfermos abstenerse de intentar sustituir a la insulina por preparaciones a base de *Psacalium peltatum* en su tratamiento.]

Algunos investigadores (87,88) reportan haber encontrado sustancias insulinomiméticas en plantas utilizadas empíricamente como antidiabéticas. La acción hipoglucemiante de estas sustancias es independiente de la insulina. Sin embargo, hasta ahora no ha sido desarrollado ningún medicamento capaz de sustituir a la insulina en el tratamiento de enfermos de diabetes mellitus tipo I, lo cual se puede deber en parte a la baja potencia de las sustancias hipoglucemiantes insulinomiméticas de procedencia vegetal.

La preparación de extractos de la raíz de *Psacalium peltatum* permitió establecer que en esta planta coexisten sustancias hipoglucemiantes e hiperglucemiantes. La presencia

de sustancias con efectos antagónicos en la glucemia de animales de laboratorio ya ha sido reportada con anterioridad para otras plantas (89).

El extracto de la raíz de *Psacalium peltatum* obtenido con diclorometano fue el único que conservó la actividad hipoglucemiante. De aquí que la sustancia responsable de esta actividad parece ser de polaridad intermedia, aunque se puede descartar en forma definitiva que en este extracto, dicha sustancia pueda encontrarse unida a otros componentes que modifiquen sus características de solubilidad. Al fraccionar el extracto la actividad hipoglucemiante se conserva únicamente en su fracción menos polar lo cual permite comenzar a especular sobre la estructura química del compuesto responsable de la actividad farmacológica que seguramente es de polaridad intermedia no pensamos que sea polar o que tenga una carga neta en su estructura.

La extracción con diclorometano a temperatura ambiente permite preservar a las estructuras químicas de posibles transformaciones por el calentamiento, como puede suceder con el uso del soxhlet(90).

El resultado fuertemente positivo en la prueba para alcaloides con el reactivo de Meyer en el extracto con diclorometano hizo pensar que los alcaloides pudieran ser los poseedores de la actividad hipoglucemiante, esta posibilidad se basa en la existencia de reportes en la literatura especializada debido a que en la literatura especializada de la existencia de alcaloides con propiedades

hipoglucemiantes (91). Sin embargo al realizar la separación de los alcaloides del extracto mediante solubilización con ácido débil se encontró en contra de lo esperado, que estos alcaloides tenían propiedades hiperglucemiantes.

El espectro de RMN mostró señales características de alcaloides pirrolizidínicos que al compararlo con el espectro de alcaloides aislados de *Senecio vulgaris* (Fig. 16) y *Senecio jacobea* (Fig. 17) se puede proponer que la mezcla de alcaloides no contiene senecifilina ni espartiidina por la ausencia de señales características del grupo metileno terminal en 5.03 y 5.23 ppm. Se puede proponer que la mezcla contiene una cantidad correspondiente a cerca de 20% de jaconina y de una mezcla de alcaloides pudiendo corresponder a jacolina y a los pares estereoisoméricos senecionina/integerrimina y retrorsina/usaramina.

Para dilucidar la proporción de ésta mezcla es necesario realizar una separación meticulosa que escapa al objetivo de esta tesis. Sin embargo, el estudio preciso de la composición alcaloidea de ésta planta puede ser motivo de atención en fases mas avanzadas de la investigación.

Tomando en cuenta todo lo anterior, el *Psacalium peltatum* puede convertirse en una fuente natural para la obtención de un fármaco o extracto semipurificado y libre de alcaloides toxicos con efecto hipoglucemiante que pueda ser administrado por vía oral para ser utilizado en el control de la diabetes mellitus. De la misma planta se pueden obtener fármacos hiperglucemiantes que podrían ser útiles para el

tratamiento de hipoglucemias severas como las que tienen lugar en los enfermos con insulinomas. Los alcaloides tipo pirrolizidina que se encontraron en la planta son materia de investigación posterior una vez que se corrobore su actividad anticancerígena ya que constituyen una parte abundante de los metabolitos secundarios de la planta.

IX CONCLUSIONES

1.- La decoción de la raíz de *Psacalium peltatum* posee actividad hipoglucemiante en animales sanos y en animales con diabetes moderada mientras que carece de dicha actividad en animales con diabetes severa.

2.- La acción hipoglucemiante de la decoción de la raíz de *Psacalium peltatum* es parecida a la de la tolbutamida.

3.- Los componentes con actividad hipoglucemiante se extraen de la raíz de *Psacalium peltatum* con diclorometano.

4.- La fracción menos polar del extracto obtenido con diclorometano de la raíz de *Psacalium peltatum* conserva la actividad hipoglucemiante.

5.-Con hexano y con metanol se extraen de la raíz de *Psacalium peltatum* componentes con actividad hiperglucemiante.

6.-El extracto de la raíz de *Psacalium peltatum* obtenido con diclorometano contiene alcaloides derivados de la pirrolizidina y que pueden ser tóxicos para el ser humano .

X BIBLIOGRAFIA

1 Farnsworth, N.R. Akerele, O. Bingel, A.S. Soejarto, D.D. Guo, Z.: LAS PLANTAS MEDICINALES EN LA TERAPEUTICA. Bol. of Panam. 107 (4): 314-327, 1989.

2 Akerele, O.: WHO s TRADITIONAL MEDICINE PROGRAMME: PROGRESS AND PERSPECTIVES. Who Chron. 38: 78-81, 1984.

3 Fransworth, N.R. y Segelman, A.B.: HYPOGLYCEMIC PLANTS. Tile & Till 3 (57): 52-57, 1971.

4 Farnsworth, N.R. y Morris, R.W.: HIGHER PLANTS- THE SLEEPING GIANT OF DRUG DEVELOPMENT. Am. J. Pharm. 148: 46-52, 1976.

5 Herberg, L.: SPONTANEOUSLY HYPERGLYCEMIC LABORATORY ANIMALS-MODELS OF HUMAN DIABETES-SYNDROME . Horm. Metab. Res. 11: 323-331, 1979.

6 Pitkin, R.M. y Reynolds, A.: DIABETOGENIC EFFECTS OF STREPTOZOTOCIN IN RHESUS MONKEYS. Diabetes 19 (2): 85-90, 1970.

7 Black, H.E. Rosenblum, I.Y. y Capen, C.C.: CHEMICALLY INDUCED (STREPTOZOTOCIN-ALLOXAN) DIABETES MELLITUS IN THE DOG. Am. J. Pathol. 98 (2): 295-305, 1980.

8 Eloy, R. Bouchet, P. Clendinnen, G. y Daniel, J.: NEW TECHNIQUE OF TOTAL PANCREATECTOMY WITHOUT DUODENECTOMY IN THE DOG. Am. J. Surg. 140: 409-412, 1980.

9 Cadavid, T. I. y Calleja, S.J.: A PRELIMINARY STUDY OF HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF *Lythrum salicaria*. J. of Nat. Prod. 43 (5): 559-616, 1980.

10 Chuclá, M.T. Lamela, M. Gato, A. y Cadavid, I.: *Centaurea corcubionensis* : A STUDY OF ITS HYPOGLYCEMIC ACTIVITY IN RATS. Plant. Med. 107-109, 1987.

11 Ibañez, C.R. y Meckes, L.M.: EFFECT OF SEMIPURIFIED PRODUCT OBTAINED FROM *Opuntia streptacantha* L. (a cactus) ON GLYCEMIA AND TRIGLYCERIDEMIA OF RABBIT. Arch. Invest. Med. 14: 437-443, 1983.

12 Ajabnoor, M.A. y Tilmisany, A.K.: EFFECT OF *Trigonella foenum graceum* IN NORMAL AND ALLOXAN-DIABETIC MICE. J. of Ethnopharmacol. 22: 45-49, 1988.

13 Swanston-Flatt, S.K. Day, C. Flatt, P.R. Gould, B.J. y Bailey, C.J.: GLYCEMIC EFFECTS OF TRADITIONAL EUROPEAN PLANT TREATMENTS FOR DIABETES: STUDIES IN NORMAL AND STREPTOZOTOCIN DIABETIC MICE. Diabetes Res. (In press)

- 14 Bailey, C.J. Day, C. y Leatherdale, B.A.: TRADITIONAL PLANT REMEDIES FOR DIABETES. *Diabetic Med.* 3: 185-186, 1986.
- 15 Hii, C.S.T. y Howell, S.L.: EFFECTS OF EPICATECHIN ON RAT ISLETS OF LANGERHANS. *Diabetes* 33: 291-296, 1984.
- 16 Kulb, H. Kiesel, V. Greolich, B. y Van der Bosuch, J.: LACK OF ANTIDIABETIC EFFECT OF EPICATECHIN. *Lancet* 1: 1303-1304, 1982.
- 17 Hikino, H. Kobayashi, M. Suzuki, Y. y Konno, Ch.: MECHANISMS OF HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF ACONITAN A, A GLYCAN FROM *Aconitum carmichaeli* ROOTS. *J. Ethnopharmacol.* 25 : 295-394, 1989.
- 18 Konno, Ch. Mizuno, T. e Hikino, H.: ISOLATION AND HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF EPHEDRANS A,B,C,D AND E, GLYCANS OF *Ephedra distachya* HERBS. *Plan. Med.* 162-163, 1985.
- 19 Tomoda, M. Shimada, K. Konno, Ch. Sugiyama, K. e Hikino, H.: PARTIAL STRUCTURE OF *Panaxan ginseng* ROOTS. *Plan Med.* 436-437, 1985.
- 20 Augusti, K. T.: EFFECT ON ALLOXAN DIABETES OF ALLYL PROPYL DISULPHIDE OBTAINED FROM ONION. *Naturwissenschaften.* 61: 172-173, 1974.
- 21 Brahmachari, H.D. y Augusti, K.T.: ORALLY EFFECTIVE HYPOGLYCEMIC PRINCIPLES FROM *Coccinia indica*. *J. Pharm. Pharmacol.* 15: 411-412, 1963.
- 22 Nathan, P.J. Negrete, Ma. C. y Gonzalez, Ma. P.: STUDIES IN CACALIA SPECIES. *Phytochem.* 9: 1623-1628, 1970.
- 23 Pieters, L. y Vlietinck, A.J.: SPARTIOIDINE AND USARAMINE, TWO PYRROLIZIDINE ALKALOIDS FROM *Senecio vulgaris* *Plan. Med.* 178-179, 1987.
- 24 Wiedenfeld, H. Hendriks, H. Bruins, A. P. y Roder, E.: ON THE ALKALOIDAL CONTENT OF *Senecio nemorensis* L., ssp. *Fuchsii* (GMEL.) Celak and *Senecio nemorensis* L., ssp. *Nemorensis* (RCHB.) Celak. *Sci. Pharm.* 57: 97-104, 1989.
- 25 Ahmed, A. A.: EREMOPHILANES FROM *Senecio desfontainei*. *J. of Nat. Prod.* 54 (1): 271-272, 1991.
- 26 Román, R.R.: DIABETES MELLITUS: LO QUE TODOS NECESITAMOS SABER. México-URSS Amistad, Ciencia y Cultura. Ed Luis Enrique Erro, IPN. 124-137, 1984.

- 27 Levin y Munksgaard : THE POPYRUS EBERS: THE GREATEST EGYPTIAN MEDICAL DOCUMENT. Copenhagen 1937.
- 28 Mehring, J. V. y Minkowski, O.: DIABETES MELLITUS NACH PANKREAS EXTIRPATION. Arch. Exp. Path. u Pharm. 26: 371-380, 1890.
- 29 Lozoya, M.: ANTECEDENTES HISTORICOS DE LA DIABETES MELLITUS. Medicina Tradicional. 3 (10): 5-8, 1980.
- 30 Banting, F.G. Best, C. H. Collip, J. B. Campbell, W.R. y Fletcher, A. A. PANCREATIC EXTRACTS IN THE TREATMENT OF DIABETES MELLITUS. Can. Med. Ass. J. 12: 141-146, 1922.
- 31 Chávez, A. Balam, G. y Zubirán, S.: ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO DE LA DIABETES EN TRES COMUNIDADES DE LA ZONA HENEQUENERA DEL ESTADO DE YUCATAN. Sal. Publ. Mex. 1963.
- 32 Rodríguez, R. y Quibrera, R.: MEDICINA PREVENTIVA Y DIABETES MELLITUS. Sal. Publ. Mex. 1964.
- 33 López Rico, A.: ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS DE LA DIABETES MELLITUS. Sal. Pub. Mex. XXI: 167, 1979.
- 34 Lerman, G. I. Posada, R.C. y Sienra, J.C.: DIABETES MELLITUS Y ATROSCLOEROSIS. Prevención de la aterosclerosis en México. Cueto, G. L. 81-98, 1989.
- 35 Lerman, G.I. Yamamoto, K. L. Cardoso, S. G. García, G. Peniche, C. Zamora, G.J. Velasquez, L. y Posadas, R.C.: DIABETES MELLITUS EN POBLACION MEXICANA. SU PREVALENCIA Y ASOCIACION CON OTROS FACTORES DE RIESGO CORONARIO. Memorias del 5^o Congreso Anual de la Federación de Asociaciones Mexicanas de Diabetes, A.C. San Luis Potosí, S.L.P. 52, 1992.
- 36 Pyorala, K.: RELATIONSHIP OF GLUCOSE TOLERANCE AND PLASMA INSULIN TO THE INCIDENCE OF CORONARY HEART DISEASE: RESULTS FROM TWO POPULATION STUDIES IN FINLAND. Diabetes Care 2 (2): 131, 1979.
- 37 National Diabetes Data Goup: CLASIFICACION AND DIAGNOSIS OF DIABETES MELLITUS AND OTHER CATEGORIES OF GLUCOSE INTOLERANCE. Diabetes. 28: 1039, 1979.
- 38 Irvine, W.J.: CLASSIFICATION OF IDIOPATHIC DIABETES. Lancet. 33: 638, 1977.
- 39 Vander, A.J. Sherman, J.H. y Luciano, D.S.: FISIOLOGIA HUMANA. Mc Graw-Hill. 2^a Ed. 311-312, 1978.
- 40 Lehninger, A. L.: BIOCHEMISTRY . Worth Publishers, Inc. 2^a Ed. 384, 1970.

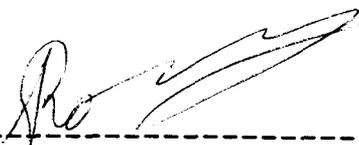
- 41 Guyton, A. C.: TRATADO DE FISILOGIA MEDICA. Editorial Interamericana. 5^a Ed. 1137, 1986.
- 42 Best y Taylor: BASES FISIOLÓGICAS DE LA PRACTICA MEDICA. Editorial Médica Panamericana S.A. 10^a Ed. 842, 1982.
- 43 Yesus, Y. W. Esterly, J.A. Sthulman, R.A. y Townsend, J. F.: SIGNIFICANT MUSCLE CAPILLARY BASEMENT MEMBRANE THICKENING IN SPONTANEOUSLY DIABETIC *Mystromys albicaudatus*. Diabetes. 25 (5): 444-449, 1976.
- 44 Benhamou, P.Y. Carpentier, P. Halimi, S Bertrand, C. Mouillon, M. y Franco, A.: AGREGATION ERYTHROCYTAIRE IN VIVO ET MICROANGIOPATHIE DIABETIQUE. Diabete & Metabolisme. 16: 192-198, 1990.
- 45 Cohen, A.M. Michaelson, I.C. y Yanko, L.: RETINOPATHY IN RATS WITH DISTURBED CARBOHYDRATE METABOLISM FOLLOWING A HIGH SUCROSE DIET. Am. J. Ophtalmol. 73: 863, 1972.
- 46 Mooradian, A. D.: DIABETIC COMPLICATIONS OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM. Endoc. Rev. 9 (3): 346-356, 1988.
- 47 Sanger, F.: CHEMISTRY OF INSULIN. Br. Med. Bull. 16: 183-188, 1960.
- 48 Larner, J.: INSULIN AND GLYCOGEN SYNTHASE. Diabetes. 21 (2): 428-438, 1972.
- 49 Czech, M. P.: THE NATURE AND REGULATION OF THE INSULIN RECEPTOR: STRUCTURE AND FUNCTION. Annu. Rev. Physiol 47: 357, 1985.
- 50 Cuatrecasas, P. INSULIN RECEPTOR OF LIVER AND FAT CELL MEMBRANES. Fed. Proc. Fed. Am. Socs Exp. Biol. 32: 1838-1846, 1973.
- 51 Turtle, J. R. y Kipnis, D.M. AN ADRENERGIC RECEPTOR MECHANISM FOR THE CONTROL OF CYCLIC 3',5'-ADENOSINE MONOPHOSPHATE SYNTHESIS IN TISSUES. Biochem. Biophys. Res. Commun. 28: 797-802, 1967.
- 52 Benjamin, W.B. y Singer, I. EFFECT OF INSULIN ON THE PHOSPHORILATION OF ADIPOSE TISSUE PROTEIN. Biochim. Biophys. Acta. 351: 28-41, 1974.
- 53 Ganong, W. F.: FISILOGIA MEDICA. Editorial El Manual Moderno. 11^a Ed. 282-295, 1988.
- 54 Ziskind, E. y Tyler, D.B. DECORTICATE AND DECEREBRATE PREPARATIONS PRODUCED BY INSULIN SHOCK. Proc. Soc. Exp. Biol.Med. 43: 734-735, 1940.

- 55 Janbon, M. Chaptal, J. Vedel, A. y Schaap, J.: ACCIDENTS HYPOGLYCEMIQUES GRAVES PAR UN SULFAMIDOTHIAZOL (LE VK57 OU 2254RP). Montpell. Méd. 21: 441-444, 1942.
- 56 Williams, R. H. y Porte, D. Jr.: THE PANCREAS. In, Textbook of Endocrinology, 5^a Ed (Williams, R.H., ed.) W.B. Saunders Co. Philadelphia, 502-626, 1974.
- 57 Breidahl, H.D. Ennis, G.C. Martin, F.I.R. Stawell, J.R. y Taft, P.: INSULIN AND ORAL HYPOGLYCAEMIC AGENTS. II. CLINICAL AND THERAPEUTIC ASPECTS. Drugs. 3: 204-226, 1972.
- 58 Goodman, L.S. y Gilman, A.: THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS. 5^a Ed. (MacMillan Publishing Co., ed.) New York, N.Y. 1507-1533, 1975.
- 59 Reis, S. : HERBARIA. SOURCES OF MEDICINAL FOLKLORE. Econ. Bot. 16: 283 ,1962.
- 60 De la Cruz-Badiano.: CODICE DE HERBOLARIA MEDICINAL. 1552.
- 61 Somolinos d Ardois, Germán. ESTUDIO HISTORICO. EN: DE LA CRUZ, M. *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*. IMSS 301-327, 1964.
- 62 Farnsworth, N.R.: BIOLOGICAL AND PHYTOCHEMICAL EVALUATION OF PLANTS. II. TEST RESULTS FROM AN ADDITIONAL TWO HUNDRED ACCESSIONS. Lloydia 31: 237-248, 1966.
- 63 Pieters, L.A.C. y Vlietinck, A.J.: QUANTITATIVE ¹H FOURIER TRANSFORM NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPIC ANALYSIS OF MIXTURES OF PYRROLIZIDINE ALKALOIDS FROM *Senecio vulgaris*. Fresenius Z. Anal. Chem. 321: 355-358, 1985.
- 64 Pieters, L. A.C. Van Zoelen, A. M. Vrieling, K. y Vlietnick, A.J.: DETERMINATION OF THE PYRROLIZIDINE ALKALOIDS FROM *Senecio jacobaea* by ¹H AND ¹³C NMR SPECTROSCOPY. Magn. Reson. Chem. 27: 754-759, 1989.
- 65 Segall, H.J. Wilson, D.W. Dallas, J.L. y Haddon, W.F.: Trans-4-Hidroxy-2-Hexenal: A REACTIVE METABOLITE FROM THE MACROCYCLIC PYRROLIZIDINE ALKALOID SENECONINE. Sci. 229 (4712): 472-475, 1985.
- 66 Krstulovic, A. M.: CHIRAL SEPARATIONS BY HPLC APPLICATIONS TO PHARMACOLOGICAL COMPOUNDS. Ed Prentice Hall (Serie Ellis Horwood)
- 67 Elfella, M.S. y Khan, M.T.: ANTI-HYPERGLYCAEMIC EFFECT OF AN EXTRACT OF *Myrtus communis* IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES IN MICE. J. of Ethnopharmacol. 11: 275-281, 1984.

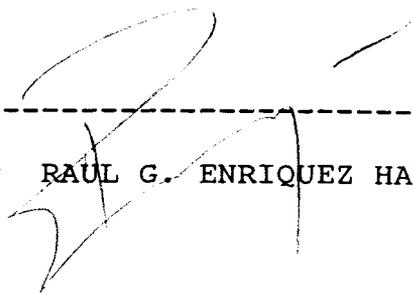
- 68 Legorreta, A.: ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS PLANTAS USADAS PARA EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES EN ALGUNOS MERCADOS DE MEXICO. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias UNAM. 1989.
- 69 Bye, R.A. y Linares, E.: THE ROLE OF PLANTS FOUND IN THE MEXICAN MARKETS AND THEIR IMPORTANCE IN ETHNOBOTANICAL STUDIES. J. Ethnobiol. 3(1): 1-13, 1983.
- 70 Pérez, G.R.M. Ocegueda, Z.A. Muñoz, L.J.L. Avila, A.J.G.: Morrow W.W.: A STUDY OF THE HYPOGLUCEMIC EFFECT OF SOME MEXICAN PLANTS. J. Ethnopharmacol. 12: 253-262, 1984.
- 71 Frati, M. A.C. Yeber, G.A. Islas, A.S. Ariza, A. C.R. Chavez, N.A.: ESTUDIOS SOBRE EL MECANISMO DE LA ACCION "HIPOGLUCEMIANTE" DEL NOPAL (*Opuntia* sp.). Arch. Invest. Med. 18: 7-12, 1987.
- 72 Ibañez, C. R. Meckes, L. M. y Mellado, C. V.: THE HYPOGLUCEMIC EFFECT OF *Opuntia streptacantha* STUDIED IN DIFFERENT ANIMAL EXPERIMENTAL MODELS. J. Ethnopharmacol. 7: 175-181, 1983.
- 73 Meckes, L.M. e Ibañez, C.R.: HEPATIC GLYCOGENOLYSIS PRODUCED BY INTRAPERITONEAL ADMINISTRATION OF TOTAL EXTRACT OF *Tecoma stans* IN RATS. Arch. Invest. Med. 16: 387-393, 1985.
- 74 Alarcón, A.F. Román, R.R. Flores, S.J.L. y Lara, L.A.: ANALISIS DEL EFECTO ANTIHIPERGLUCEMICO PRODUCIDO POR ALGUNAS PLANTAS "ANTIDIABETICAS" EN CONEJOS. Memorias del 5 Congreso Anual de la Federación de Asociaciones Mexicanas de Diabetes, A.C. San Luis Potosí, S.L.P. 74, 1992.
- 75 Linares, E. y Bye, R.A.Jr.: A STUDY OF FOUR MEDICINAL PLANT COMPLEXES OF MEXICO AND ADJACENT UNITED STATES. J. Ethnopharmacol. 19: 153-183, 1987.
- 76 García, P.J.: SENEIO L. (FLORA FANEROGAMICA DEL VALLE DE MEXICO). 596-607, 1985.
- 77 Rose, J.N. : NOTES ON USEFUL PLANTS OF MEXICO. Contr. U.S. Natl. Herb. 5 (4): 209-259, 1899.
- 78 Duffy, E.: ALLOXAN DIABETES IN THE RABBITS. J. Pathol. Bacteriol. 57: 199, 1945.
- 79 Daniel, W.W.: BIOESTADISTICA. BASE PARA EL ANALISIS DE LAS CIENCIAS DE LA SALUD. Ed Liumusa. 1983.
- 80 Spiegel, M.R.: ESTADISTICA. Ed McGraw-Hill . 1970.

- 81 Dixit, V.P. Rakesh, S. y Tank, R.: EFFECT OF NEEM SEED OIL ON THE BLOOD GLUCOSE CONCENTRATION OF NORMAL AND ALLOXAN DIABETIC RATS. *J. Ethnopharmacol.* 17: 95-98, 1986.
- 82 Nobrega, A.R. Barbosa, F.JM. y Ramnath, N.S.: CHEMISTRY AND PHARMACOLOGY OF AN ETHANOL EXTRACT OF *Bumelia sartorum*. *J. Ethnopharmacol* 14: 173-185, 1985.
- 83 Frati, M.A. Yever, G.A. Islas, A.S. Ariza, A.CR. y Chavez, N.A.: ESTUDIOS SOBRE EL MECANISMO DE LA ACCION "HIPOGLUCEMIANTE" DEL NOPAL (*Opuntia sp.*). *Arch. Invest. Med.* 18 (7): 7-12, 1987.
- 84 Román, R.R. Flores, S.JL. Partida, H.G. Lara, L.A. y Alarcón, A.F.: EXPERIMENTAL STUDY OF THE HYPOGLYCEMIC EFFECT OF SOME ANTIDIABETIC PLANTS. *Arch. Invest. Med.* 22: 87-93, 1991.
- 85 Walter, P.H. Ellenbogen, G. Lins, W. Pupo, A.A. Raia, A. Garbin, W. Louza, W. y Fera, S.: DIABETE PANCREATICO EXPERIMENTAL NO CAO. *Rev. Assoc. Med. Brasil.* 15 (9): 363-368, 1969.
- 86 Jackson, E.W.: GUIA PROFESIONAL DE MEDICAMENTOS. Ed El Manual Moderno. 1986.
- 87 Collier, E. Watkinson, A. Cleland, Ch. y Roth, J.: PARTIAL PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF AN INSULIN-LIKE MATERIAL FROM SPINACH AND *Lemna gibba* G3. *J of Biol. Chem.* 262 (13) 6238-6247, 1987.
- 88 Kanna, P. y Jain, S.C.: HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF POLYPEPTIDE-P FROM A PLANT SOURCE. *J Nat. Prod.* 44(6): 648-655, 1981.
- 89 Peters, G.: UBERSCHITTEN INSULIN: ERSATZMITTEL PFLANZLICHEN URSPRUNGS. *Dtsch Med Wochenschr* 82: 320-322, 1957.
- 90 Karrer, W.: KONSTITUTION UND VORKOMMEN DER ORGANISCHES PFLANZENSTOFFE, BIRKENHAUSER VERLAG BASILEA, 1958.
- 91 Swanston, F.SK. Day, C, Flatt, PR. Gould, BJ. y Bailey, C.J.: GLYCEMIC EFFECTS OF TRADITIONAL EUROPEAN PLANT TREATMENTS FOR DIABETES: STUDIES IN NORMAL AND STREPTOZOTOCIN DIABETIC MICE. *Diabetes Res.* In Press.
- 92 Pieters, L.A.C. y Vlietinck, A.J.: QUANTITATIVE ¹H FOURIER TRANSFORM NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPIC ANALYSIS OF MIXTURES OF PYRROLIZIDINE ALKALOIDS FROM *Senecio vulgaris*. *Fresenius Z. Anal Chem* 321: 355-358, 1985.

EL JURADO DESIGNADO POR LA DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA, UNIDAD IZTAPALAPA, APROBO LA PRESENTE TESIS A LOS 29 DIAS DEL MES DE JUNIO DEL AÑO MIL NOVECIENTOS NOVENTA Y DOS.



Dr RUBEN ROMAN RAMOS



Dr RAUL G. ENRIQUEZ HABIB



Dra LAURA PEREZ FLORES